Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung von Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma hirsuter Frauen vor und während Therapie mit Cyproteronacetat und Äthinylöstradiol

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Klaus Josef Engelhard
aus Crailsheim

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547603_0029

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung von Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma hirsuter Frauen vor und während Therapie mit Cyproteronacetat und Äthinylöstradiol

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Klaus Josef Engelhard
aus Crailsheim

1983

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr. A. E. Schindler
2. Berichterstatter:	Professor Dr. H. A. Hirsch

REFO-DRUCK HANS VOGLER TÜBINGEN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Hirsutismus	1
1.2.	Cyproteronacetat	5
1.3.	Problemstellung	8
2.	MATERIAL UND METHODE	10
2.1.	Materialien	10
2.1.1.	Gewinnung der Blutproben	10
2.1.2.	Lösungsmittel und Chemikalien	10
2.1.3.	Kristalline Steroide	11
2.1.4.	Radioaktive Steroide	11
2.1.5.	Verwendete Geräte und Hilfsmittel	11
2.2.	Methode	13
2.2.1.	Prinzip des Radioimmunoassays	13
2.2.2.	Gewinnung der Antiseren	13
2.2.3.	Vorbereitung der Versuche	14
2.2.4.	Vorversuche	15
2.2.4.1.	Kontrollseren	15
2.2.4.2.	Überprüfung der Trennungsfraktionen	16
2.2.4.3.	Bestimmung der Normalwerte	16
2.2.5.	Hauptversuche	18
2.2.5.1.	Vorbereitung der Proben und Extraktion der Hormone	18
2.2.5.2.	Säulenchromatographie	18
2.2.5.3.	Radioimmunoassay	19
2.2.5.4.	Auswertung der Daten	19
2.2.6.	Qualitätskontrolle	21
3.	ERGEBNISSE	22
3.1.	Ergebnisse der Vorversuche	22
3.2.	Ergebnisse der Hauptversuche	24
4.	DISKUSSION	48
5.	ZUSAMMENFASSUNG	
6.	LITERATURVERZEICHNIS	

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

A	= Androstendion
CA	= Cyproteronacetat
DHEA	= Dehydroepiandrosteron
DHT	= Dihydrotestosteron
FSH	= Follikel Stimulierendes Hormon
LH	= Luteinisierendes Hormon
17-KS	= 17-Ketosteroide
RIA	= Radioimmunoassay
SHBG	= Sex hormone binding globuline
T	= Testosteron

1. EINLEITUNG

1.1. Hirsutismus

Hirsutismus - definiert als vermehrte Körperbehaarung an Prädilektionsstellen wie Oberlippe, Kinn, Sternum, Warzenhof, Linea alba und Innenseite der Oberschenkel, also als eine bei der Frau vorkommende Gesichts-, Körper-, und Sexualbehaarung vom männlichen Typ - wird unterschiedem von der

Hypertrichose, der vermehrten Behaarung einzelner Hautabschnitte oder des ganzen Integumentes ohne spezielle Prädilektionsstellen (z.B. bei Lungentuberkulose, Poliomyelitis, kindlicher Hypothyreose etc.).

Hirsutismus kann als alleiniges Symptom auftreten, ist jedoch häufig kombiniert mit Akne, Seborrhoe, temporaler Alopezie und Zyklusstörungen (9 , 74). Er findet sich auch häufig als Leit- oder Teilsymptom einer allgemeinen Virilisierung (bei 10-20% der hirsuten Frauen mit Klitorishypertrophie, Vertiefung der Stimme, Amenorrhoe und männlichem Habitus (9)).

Der Hirsutismus, dessen Häufigkeit in der weiblichen Gesamtbevölkerung mit 2-4% angegeben wird, stellt aber nicht nur oft ein psychisches Problem für die betroffenen Frauen dar, sondern kann auch Ausdruck einer ernstzunehmenden endokrinen Störung sein:
Er kann in endokrinen Störungen im Bereich der

- Nebennieren (NNR-Adenome und -Karzinome, kongenitales oder erworbenes Adrenogenitales Syndrom),
- der Ovarien (Polycystische Ovarien, androgenproduzierende Ovarieltumoren wie Arrhenoblastom, Thekom, Hiluszelltumor)
- der Hypophyse (z.B. beim Cushing Syndrom, bei der Akromegalie)

begründet sein, kann bei gewissen Formen der

- Intersexualität (Pseudohermaphroditismus masculinus,

Gonadendysgenesie mit androgener Manifestation) auftreten, als kongenitale Anomalie im Sinne einer
- Hypertrichosis lanuginosa vorkommen, und unerwünschte Begleiterscheinung von
- Medikamenten sein (Anabolika, Androgene, Diphenylhydantoin, Kortikosteroide, ACTH, Diazoxide)
(nach TAUBERT 1977)

All diese Formen werden auch als symptomatischer Hirsutismus bezeichnet. Können diese Formen des symptomatischen Hirsutismus ausgeschlossen werden, spricht man vom idiopatischen Hirsutismus, einer Ausschlussdiagnose, die auch heute noch in über 9o% aller Fälle gestellt werden muss.

Während man bestimmte Formen dieses symptomatischen Hirsutismus schon lange als Symptom eines mehr oder weniger ausgeprägten Hyperandrogenismus erkannte (z.B. bei androgenproduzierenden Ovarial- oder NNR- Tumoren), konnten beim idiopatischen Hirsutismus lange Zeit keine schwerwiegenden endokrinen Störungen nachgewiesen werden. Bis vor kurzem noch wurde der idiopatische Hirsutismus dem symptomatischen Hirsutismus als eine Hirsutismusform mit normalen Androgenspiegeln gegenübergestellt.

Durch die Entwicklung feinerer Messmethoden (z.B. radioimmunologische Bestimmungsmethoden, kinetische Studien mit radioaktiv markierten Androgenen) konnten neue Erkenntnisse über den Androgenstoffwechsel allgemein gewonnen werden und im besonderen pathogenetisch wesentliche Abweichungen im Androgenstoffwechsel hirsuter Frauen aufgezeigt werden. Verschiedene Abweichungen scheinen für die Entstehung des idiopatischen Hirsutismus von Bedeutung zu sein:

Auch bei Frauen mit sogenanntem idiopatischen Hirsutismus konnte in einem unterschiedlichen Prozentsatz eine Erhöhung der totalen Plasmakonzentration eines oder mehrerer Androgene nachgewiesen werden (2,3,11,12,25,27, 39, 45, 5o, 53, 66, 69, 76).

Bei den Frauen mit normalen Androgenkonzentrationen

scheint u.a. ein erhöhter "Androgenumsatz" von Bedeutung zu sein. Erhöhte Produktionsraten bei gleichzeitig erhöhten metabolischen Clearance-Raten, wie sie von mehreren Autoren beschrieben werden (25,38,43,44,45,46,54), scheinen für diese Annahme zu sprechen.

Einer erniedrigten SHBG-Kapazität bei gleichzeitig erhöhtem Anteil des freien, biologisch aktiven Testosterons und Dihydrotestosterons (9,25,35,73,77) scheint ebenso Bedeutung zuzukommen,wie einer erhöhten peripheren Konversion der schwachen Androgene Androstendion und Dehydroepiandrosteron in die potenten Androgene Testosteron und Dihydrotestosteron (25,56,75). Zusätzlich scheint auch Testosteron in der Peripherie verstärkt in DHT umgewandelt zu werden (25,56).

Neben diesen beschriebenen Abweichungen im Androgenstoffwechsel hirsuter Frauen muss aber bei einer Anzahl von Patientinnen zusätzlich eine genetisch fixierte erhöhte Rezeptorenempfindlichkeit der Haarfollikel und Talgdrüsen gegenüber den Androgenen postuliert werden (11).

KIRSCHNER et al. konnten 1976 durch selektive Katheterisierung der adrenalen und ovariellen Venen bei 42 von 44 Frauen mit idiopathischem Hirsutismus die Ovarien als Hauptquelle der Androgenüberproduktion (Testosteron und Androstendion) ausmachen - und zwar unabhängig davon, ob sich die Androgenproduktion mit Dexamethason hemmen liess oder nicht. Damit steht er teilweise im Widerspruch zu den Ergebnissen früherer Untersuchungen, wo man durch Suppression und Stimulation der NNR und des Ovars (mit Dexamethason, Östrogenen, ACTH, HCG) die Quellen des Androgenüberschusses zu bestimmen versuchte und zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen kam, oft aber v.a. die Nebenniere oder Nebenniere und Ovar gemeinsam als Quelle der vermehrten Androgenproduktion bezeichnete (2,3,15,26,51,66). Nicht zuletzt durch die Tatsache, dass Kortikosteroide wie Dexamethason auch direkt die Ovarien (44,45) und Östrogene auch die NNR beeinflussen (16,57) und die geringe Zuverlässigkeit der Testergebnisse haben diese

Testverfahren in den letzten Jahren viel von ihrer bisherigen Bedeutung verloren (16,44,45,48).

Ausgehend von der Androgenabhängigkeit der hirsuten Symptomatik wurde schon längere Zeit versucht, die Androgenproduktion aus Ovar und NNR zu steuern und dadurch eine Besserung des Krankheitsgeschehens zu erreichen:

Die Behandlungsergebnisse mit Kortikoiden (z.B. Dexamethason oder Prednisolon) haben insgesamt enttäuscht (1o.39), obwohl erwartungsgemäss ein Abfall der Androgene erreicht werden konnte. Berichtet wird über eine klinische Besserung in 1o-3o% der Fälle.

Auch die Suppression des Ovars mit Ovulationshemmern konnte keine überzeugenden Behandlungserfolge erbringen, obwohl auch hier über abfallende Testosteronspiegel berichtet wurde (1o,16,39,49,68).

Die Unsicherheit des Erfolges und die Nebenwirkungen auch der niedrig dosierten Steroide rechtfertigen diese Art der Therapie heute im allgemeinen nicht mehr.

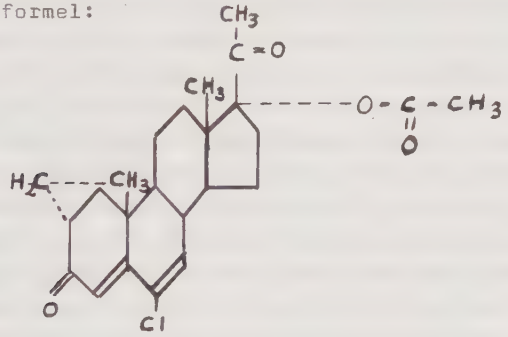
Im Jahre 1963 gelang WIECHERT die Synthetisierung von Cyproteron und seinem Acetat. NEUMANN konnte 1966 tierexperimentell die antiandrogene Partialwirkung dieses Progestagens nachweisen, nachdem bereits FIXSON 1963 aufgrund klinischer Untersuchungen auf den nichtvirilisierenden Effekt des Gestagens aufmerksam gemacht hatte.

Nachdem HAMMERSTEIN et al. 1969 erstmalig über die Behandlung des Hirsutismus mit Cyproteronacetat berichteten, konnten inzwischen verschiedene Autoren über positive Ergebnisse bei der Behandlung des Hirsutismus mit diesem neuen Antiandrogen berichten (7,2o,28,29,3o,32, 48,59,71,74,79).

1.2. Cyproteronacetat

Cyproteronacetat, im Handel als "Androcur" erhältlich, ist das bis heute am häufigsten verwandte und am besten untersuchte Antiandrogen.

Als Antiandrogene werden Substanzen definiert, die die Wirkungen natürlicher und synthetischer Androgene auf irgendeine Art und Weise an den Erfolgsorganen hemmen(7o). Substanzen, die z.B. lediglich die Synthese von Androgenen hemmen (wie z.B. die Östrogene), werden nach der heutigen Definition nicht als Antiandrogene angesehen(59). Cyproteronacetat hat folgende - dem Testosteron ähnliche- Srukturformel:



Cyproteronacetat zeigt drei Haupteigenschaften, die sowohl tierexperimentell als auch in klinischer Erprobung nachgewiesen werden konnten, nämlich eine

- antiandrogene
- progestative und
- antigonadotrope Wirkung

Die antiandrogene Wirkung kommt durch den kompetitiven Antagonismus zwischen den Androgenen und Cyproteronacetat zustande. So hemmt CA im menschlichen Prostatagewebe die Bindung von Testosteron bzw. DHT sowohl an den Plasmarezeptor als auch an den Nuklearrezeptor (75).
FANG und LIA fanden 1969 ebenfalls, dass CA die Aufnahme von DHT in die Prostatazellkerne hemmt. Inwieweit CA auch die Aktivität der 5-a-Reduktase selektiv beeinflusst,

wird erst nach weiteren Untersuchungen gesagt werden können. Als Ergebnis der antiandrogenen Wirkung sind folgende Wirkungen anzusehen:

- CA führt dosisabhängig zur reversiblen Atrophie der akzessorischen Geschlechtsdrüsen (59). Versuche mit CA bei der Therapie der Prostatahypertrophie und des Prostatacarcinoms scheinen deshalb gerechtfertigt.
- CA führt zur reversiblen Hemmung der vor allem androgenabhängigen Spermatogenese. Versuche, mit CA einen wirkungsvollen, reversiblen Kontrazeptionsschutz für Männer zu entwickeln, führten bis jetzt aber noch zu keinen befriedigenden Ergebnissen (31).
- da CA die Knochenreifung hemmt und den physiologischen Schluss der Epiphysenfugen verzögert, wird es heute schon mit Erfolg zur Behandlung der Pubertas praecox eingesetzt.
- CA hemmt die Androgenwirkung auf die Hautanhangsgebilde wie Haarfollikel und Talgdrüsen; es reduziert die Talgdrüsenaktivität durch Mitosehemmung (59), hemmt die Umwandlung der Körperhaare vom Lanugo- zum Terminalhaar und verhindert den Übergang der Kopfhaarfollikel aus der Wachstumsphase in die Ruhephase(9). Aufgrund dieser und anderer Wirkungen findet zur Zeit eine umfangreiche klinische Erprobung des CA bei der Therapie des Hirsutismus statt.
- CA vermindert beim Menschen beiderlei Geschlechts die Libido (59). Während diese Libidoverminderung Ursache für die Therapie von Sexualdeviationen verschiedener Art mit CA ist, stellt sie eine schwerwiegende, unerwünschte Nebenwirkung des CA bei allen anderen Therapiemöglichkeiten dar.
- in der Frühschwangerschaft beeinflusst CA die testosteronabhängigen Differenzierungsvorgänge im männlichen Feten, was zu einer ganz bestimmten Form der Intersexualität führt (48).

CA besitzt im Gegensatz zu seinem freien Alkohol auch eine ausgeprägte gestagene Wirkung (3o). Im Aufbauversuch

nach KAUFMANN beträgt die Transformationsdosis 2o mg, im CLAUBERG-Test zeigt sich CA oral bzw. subcutan 15oo bzw. 2ooo mal stärker wirksam als Progesteron (3o).

Aufgrund seiner starken gestagenen Wirksamkeit hat CA auch antigonadotrope Wirkung, erkennbar im Parabiosetest, Hodenhemmtest bei infantilen Ratten sowie an der Hemmung der Ovulation. Dass die gestagene Wirkung des CA für die antigonadotrope Wirkung unabdingbar ist, zeigt der Vergleich von CA mit Cyproteron: Das reine Antiandrogen Cyproteron beeinflusst die androgensensiblen hypothalamischen Rezeptorareale im Sinne einer kompetitiven Hemmung, simuliert also ein Androgendefizit und führt so über Hypothalamus-Hypophyse zu einem Hypergonadotropismus und als Folge zu einer Stimulierung der Androgensynthese. Diese unerwünschte Wirkung wird durch die stark gestagene Partialwirkung des CA verhindert (3o,6o,). Eine Verminderung der Gonadotropinkonzentrationen im Plasma unter Behandlung mit CA wurde inzwischen von verschiedenen Autoren beschrieben (23,27,3o,72).

Dass CA neben den obengenannten Wirkungen auch direkt auf die enzymatischen Reaktionen der Androgenbiosynthese wirkt, konnten KARSCHNIA et al. 1973 nachweisen: CA hemmt dabei die Testosteronsynthese aus Pregnenolon erheblich, diejenige aus Progesteron weniger.

Die genannten Wirkungen des CA liessen es schon lange als besonders geeignet zur Therapie des Hirsutismus und der Akne, Seborrhoe und Alopezie erscheinen. HAMMERSTEIN konnte 1969 mit seiner sogenannten "umgekehrten Zweiphasentherapie" (5.-14. Tag 1oo mg CA + o,o5 mg Äthinylöstradiol; 15.-25. Tag nur o,o5 mg Äthinylöstradiol) ein geeignetes Therapieschema entwickeln. Durch die zusätzliche Östradiolgabe und die gestagene Partialwirkung des Cyproteronacetats konnte ein sicherer Empfängnisschutz erreicht werden - eine unabdingbare Vorraussetzung wegen der feminisierenden Wirkung des CA auf männliche Feten (s.o.). Die lange Speicherzeit des CA im menschlichen Fettgewebe (3o,32) machte eine Umkehrung der

Zweiphasentherapie notwendig, um regelmässige Abbruchblutungen zu gewährleisten.

1.3. Problemstellung

Die Bestimmung verschiedener Androgene, von Cortisol , der 17-Ketosteroide im Urin, der Gonadotropine und anderer Hormone unter der Therapie mit CA und Äthinylöstradiol wurde in der Zwischenzeit zum Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gemacht (2o,23,25,26,27,29,3o,37,58,62, 72,79).

Eine weitere Untersuchung der Plasmakonzentrationen hypophysärer, adrenaler und ovarieller Hormone bei Frauen mit hirsuter Symptomatik vor und während der Therapie mit CA und Äthinylöstradiol könnte das Verständnis der endokrinen Dysregulation beim Hirsutismus allgemein erweitern, vor allem auch weitere Aufschlüsse über Einflüsse der Therapie auf die verschiedenen Hormonkonzentrationen erbringen. Mit dieser Arbeit erhofften wir uns insbesondere Aufschluss über die Frage, inwieweit die routinemässige radioimmunologische Bestimmung der Androgene Testosteron, Dihydrotestosteron, Androstendion und Dehydroepiandrosteron bei Patientinnen mit Hirsutismus eine Aussage erlaubt über Pathogenese der Krankheit (z.B. Tumor, Ovar - Nebennierenrinde) und damit unter Umständen therapeutische Konsequenzen für den behandelnden Arzt haben könnte, und ob eine Abhängigkeit zwischen den Konzentrationen verschiedener Hormone und klinischem Krankheitsbild bzw. Besserung unter Therapie vorhanden ist - ob die Bestimmung der Androgene also eine zusätzliche Information für den behandelnden Arzt mit sich bringt oder ob in Zukunft diese Androcur/Progynon C Kombination nicht wie z.B. jedes normale Kontrazeptivum ohne zusätzliche Hormonbestimmungen verordnet werden kann.

An der Universitätsfrauenklinik Tübingen wurde bei einem grösseren Kollektiv hirsuter Frauen die Plasmakonzentration von Testosteron, Dihydrotestosteron, Androstendion, Dehydroepiandrosteron, 17-Ketosteroiden, Cortisol, FSH und LH vor und/oder während Therapie mit einer Androcur/Progynon C Kombination (Schema nach HAMMERSTEIN oder abgewandelt nach SCHINDLER) bestimmt. Die Androgene wurden dabei mit einer eigenen radioimmunologischen Methode bestimmt.

In der vorliegenden Arbeit interessieren dabei vor allem die Konzentrationen von Testosteron und Dihydrotestosteron im Blut dieser Frauen und der Zusammenhang zwischen diesen Androgenkonzentrationen und klinischem Krankheitsbild.

2. MATERIAL UND METHODE

2.1. Materialien

2.1.1. Gewinnung der Blutproben

In der Endokrinologischen Sprechstunde der Universitätsklinik Tübingen wurde von 78 Patientinnen mit der Diagnose "Hirsutismus" insgesamt 195 Blutproben vor, während oder nach der umgekehrten Zweiphasentherapie mit Cyproteronacetat und Äthinylöstradiol gewonnen.

Ca. 1o ml venöses Blut wurde in heparinisierten Reagenzgläschen (Trockenheparin Vetren^{R}) aufgefangen und bei 4ooo U/min 5 Minuten zentrifugiert. Das gewonnene Plasma wurde abpipettiert und bei -2o Grad Celsius bis zur Verarbeitung gelagert.

2.1.2. Lösungsmittel und Chemikalien

Aceton pro analysi	Merck, Darmstadt	Nr. 14
Äthanol "	"	Nr. 972
Diäthyläther "	"	Nr. 921
Benzol für die Spektroskopie	"	
Isooctan "	"	Nr. 4718
Methanol "	"	Nr. 6oo2
Gelatine	Serva, Heidelbg	
Glaswatte, reinst, silanisiert f. Gaschromatogr.	"	Nr. 22367
Norite A	"	
Dextran T 7o	Pharacia fine chemicals Uppsala, Schweden	Nr 173o
Sephadex LH 2o	"	
Filterpapier	Whatman LTD GF/A 1,ocms	
Filterpapier	Schleicher u. Schüll 2omm	Nr. 589
Parafilm	Amer. Can. Company Dixie/Marathon,Greenwich	C.T.o683o

Trockeneis Fa. Agefko, Eyach
Unisolve 1 emulsifier Fa. Zinsser Nr. 19927
Vetren, Trockenheparin, Promonta
125ooo I.E.

2.1.3. Kristalline Steroide

Die kristallinen Steroide wurden zur Herstellung der Standardlösungen benutzt.
Sie wurden von "Steraloids", Pauling, USA bezogen.
-- Testosteron (17β-Hydroxy-4.androsten-3one) A 695o
-- Dihydrotestosteron (5β-Androsten-17 -ol-3one) A373o

2.1.4. Radioaktive Steroide

Die radioaktiven Steroide wurden als Recovery-Tracer zur Inkubation und als Assay-Tracer zur Durchführung des Assays verwandt.
Sie wurden als Tracer-Stammlösung von der Firma "New England nuclear" bezogen.

Testosterone 1,2,6,7-3H NET-181
o,25 mCi o,oo85 mg
in o,25 ml Benzene/Ethanol (9/1)

Dihydrotestosterone 1,2-3H NET-3o2
o,25 mCi o,oo17 mg
in o,25 ml Benzene/Ethanol (9/1)
Lot. Nr. 172-o63

2.1.5. Verwendete Geräte und Hilfsmittel

Liquid scintillation counter,Isocap 3oo,Nuclear Chicago
Rechner Hewlett Packard 981oA Calculator
Plotter Hewlett Packard 9862A Calculator Plotter
Kryozentrifuge; Cyrofuge 6-6, Heraeus Christ GmbH
Typ Nr. 5o12

Vakuumschrank; Typ VT Heraeus Christ GmbH 5o92 EK
Magnetrührer; Cenco Instrumenten, Niederl. Cat.Nr.34521
Vortex; " Cat.Nr.34524-2oo
Halbmikroanalysenwaage, Fa. Mettler, Typ B6
Zentrifugen für Eppendorfhütchen, Eppendorf Gerätebau

Reagenz- und Zentrifugenröhrchen, Sahrstedt,Nürnbrecht Nr.513
Reagiergefässe " Nr.69o
Verschlussdeckel " Nr.146
Glasteströhrchen für die Zellwaschzentrifuge 75 12 mm
Merz und Dade GmbH München Nr.4513oo
Zentrifugengläschen mit glattem Rand ca. 112 16/17mm
Assistant Nr.938
Eppendorf-Pipetten und Pipettenspitzen
Eppendorf Gerätebau Hamburg
Konstriktionspipetten; H.E. Pedersen, Denmark

2.2 METHODE

2.2.1. Prinzip des Radioimmunoassays

Die radioimmunologische Bestimmung einer Substanz beruht auf dem Prinzip der kompetitiven Bindung zweier Substratmoleküle an einem spezifischen Protein. Ein radioaktiv markiertes und ein nicht markiertes Hormon konkurrieren um die Bindung an einem spezifischen Antikörper. Das gebundene Hormon wird vom ungebundenen Anteil durch Adsorption an Kohle getrennt und nach Zentrifugieren verworfen; durch Messung der Aktivität im Überstand und durch Vergleich mit einer Standard-Eichkurve kann auf die Konzentration des nicht markierten, zu bestimmenden Hormons geschlossen werden.

Da ein spezifischer Antikörper für T und DHT nicht zur Verfügung steht (s.a. 2.2.5.), mussten die beiden Androgene vor der radioimmunologischen Bestimmung getrennt werden. In dieser Versuchsanordnung wurde dies mittels Säulenchromatographie erreicht.

2.2.2. Gewinnung der Antiseren

Die Herstellung der Antikörper geschah nach der u.a. bei HOLZER 1980 beschriebenen Methode: Neu Seeland Kaninchen wurde das Antigen intradermal injiziert. Unter laufender Kontrolle des Antikörpertiters wurden wiederholt Boosterinjektionen verabreicht. Nach ausreichendem Antikörpertiter wurde das Blut aus der Ohrarterie oder durch Herzpunktion gewonnen.

2.2.3. Vorbereitung der Versuche

Für jeden Versuch wurde eine Reihe von Lösungen angesetzt, deren Herstellung im folgenden beschrieben wird:

Stocklösungen

Stock A: 68,99 g NaH_2PO_4 mit Aqua dest. auf 1ooo ml
Stock B: 17,8g Na_2HPO_4 "
Stock C: 61,36g NaCl "
Zu jeder Stocklösung werden 1 mg Thiomersal hinzugegeben.

Gelatinepuffer o,1%

1g Gelatine
1 mg Thiomersal
6,6 ml Stock A
66,7 ml Stock B
133,3 ml Stock C
-- mit Aqua dest. auf 1oooml auffüllen.

Sowohl die Stocklösungen als auch der Gelatinepuffer werden bei 4 Grad Celsius gelagert. Bei Benutzung müssen sie Raumtemperatur haben.

Norite - Lösung (dextran-coated-charcoal)

2,5g Norite A
o,25g Dextran T 7o
5ooml Gelatinepuffer

Anschliessend mindestens 2 Stunden mit dem Magnetrührer vermischen und bei 4 Grad Celsius lagern. Vor jeder Benutzung mindestens 15 Minuten rühren.

Antikörperverdünnungen

Die Antikörperkonzentrationen wurden auf 4o-5o% Nullbindung eingestellt. Es ergaben sich folgende Verdünnungen:

T: 1:8ooo
DHT: 1:4ooo
Antikörper Nr.3o vom 25.6.74

Kalte Standardlösungen

Aus kristallinen Steroiden wurden folgende Standardlösungen von T und DHT in o,1% GP hergestellt:
2o, 5o, 1oo, 2oo, 5oo, 1ooo pg/1ooul

Tracerlösungen

Aus der Orginal-Tracer-Stammlösung wurden Verdünnungen hergestellt, sodass sich für den Recovery-Tracer eine Zerfallszahl von ca. 1oooopm/1oo ul, für den Assay-Tracer eine Zerfallszahl von ca 1o ooocpm/1ooul ergab.

Die hergestellten Tracerlösungen wurden vor Gebrauch im -Counter ausgetestet.

2.2.4. Vorversuche

2.2.4.1. Kontrollseren

Für die Präzisions- und Richtigkeitskontrolle wurden ca. 4o Kontrollseren aus einem Plasmapool einer 26-jährigen gesunden Frau hergestellt. Die Hälfte der Seren wurde dabei zusätzlich mit einer bekannten Menge von Testosteron und Dihydrotestosteron versetzt(+1oopg T und DHT aus einer Standardlösung). Die Hormonkonzentration der Hälfte aller Seren wurde in einem Vorversuch bestimmt(=Sollwertbestimmung). Der Rest der Seren lief als Kontrollseren bei den einzelnen Assays mit. Näheres über die Qualitätskontrollen siehe auch Abschnitt 2.2.5.

2.2.4.2. Überprüfung der Trennungsfraktionen

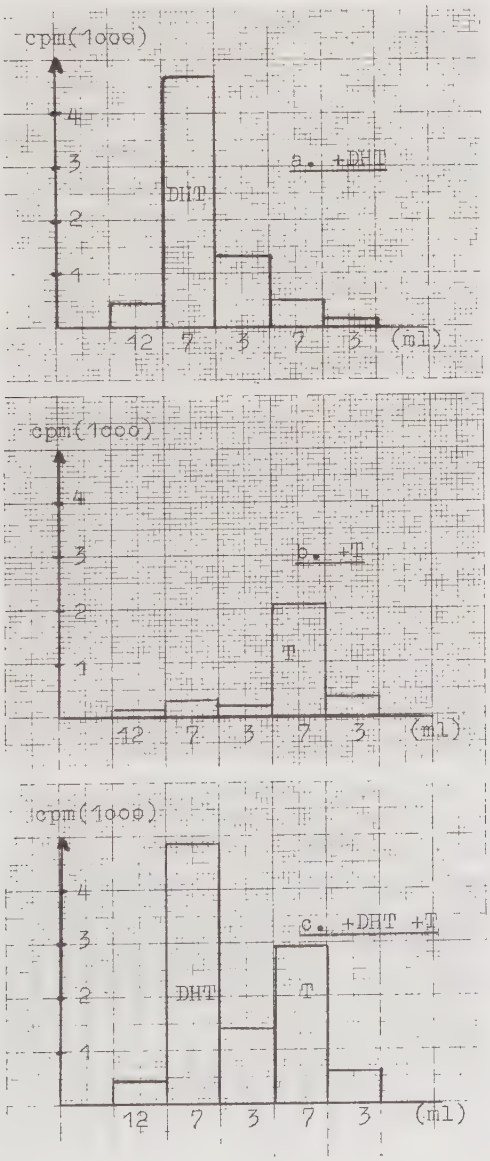
Wie schon mehrfach beschrieben, machten auch wir die Erfahrung, dass die Trennung der verschiedenen Hormone durch die Säulenchromatographie entscheidend von den verwendeten Lösungsmitteln der mobilen Phase abhängt. So scheinen nicht nur Lösungsmittel, die von verschiedenen Firmen bezogen werden, sondern sogar Lösungsmittel aus verschiedenen Chargen der selben Firma die Trennungsfraktionen der verschiedenen Hormone unter Umständen verändern zu können. Um dieser Erfahrung Rechnung zu tragen, wurden die Trennungsfraktionen mit den Lösungsmitteln, die später verwendet werden sollten, nochmals überprüft.

Diagramm 1 zeigt die Ergebnisse der Trennungsversuche. Dabei wurde radioaktiv markiertes Testosteron bzw. Dihydrotestosteron getrennt (Figur a und b) bzw. gemeinsam (Figur c) auf Sephadex LH-2o-Säulen aufgetragen.

2.2.4.3. Bestimmung der Normalwerte

Um die Konzentrationen von Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma hirsuter Frauen beurteilen zu können, wurden die Plasmakonzentrationen von T und DHT bei bei einem Normalkollektiv bestimmt: 24 gesunden Frauen zwischen 2o und 4o Jahren mit normalem Zyklusgeschehen wurde Blut zwischen dem 5. und 28. Zyklustag entnommen. Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma dieser Frauen wurden mit der beschriebenen Methode bestimmt.

Diagramm 1: Sammlungsfraktionen von radioaktiv markiertem T und DHT nach Trennung durch Sephadex-LH-Säulen.



2.2.5. Hauptversuche

2.2.5.1. Vorbereitung der Proben und Extraktion der Hormone

Nachdem am Vorabend 35 bis 4o Patientenseren zusammen mit 2 Kontrollseren auf Raumtemperatur gebracht und mit je 1o ul T- und DHT-Recovery Tracer inkubiert worden waren, wurden T und DHT aus den mit 4 ml Diäthyläther versetzten Proben auf dem Rotormixer extrahiert.

Die organische Phase mit den Hormonen wurde durch anschliessendes Zentrifugieren und Einfrieren des Plasmas im Trockeneis-Aceton-Bad von der wässrigen Phase getrennt. Die Extraktion wurde einmal wiederholt.

2.2.5.2. Säulenchromatographie

Da für Testosteron und Dihydrotestosteron keine spezifischen Antikörper zur Verfügung standen (siehe auch 2.2.6.), mussten die beiden Androgene vor der radioimmunologischen Bestimmung mit Hilfe der Säulenchromatographie getrennt werden.

Die Herstellung der Sephadex LH 2o-Säulen geschah nach der u.a. bei KESSLER 198o beschriebenen Methode.

Die extrahierten und eingedampften Hormone wurden in 5ooml Lösung 2 (Isooctan:Methanol = 9o:5:5) gelöst und auf die präparierten Säulen aufgetragen.

Anschliessend wurden die aufgetragenen Hormone mit insgesamt 29ml Lösung 2 eluiert. Die Hormonfraktionen von T und DHT wurden entsprechend den Ergebnissen der Vorversuche aufgefangen (siehe auch 2.2.4.2.) .

Die gesammelten Fraktionen wurden im Vakuumschrank eingedampft und in 1ml absoluten Äthanol gelöst. 2x3oo ul des gelösten Hormons wurden für die Doppelbestimmung im Assay verwandt, weitere 3oo ul wurden zur Bestimmung der Recovery in Szintillationsgefässe

abpipettiert.
Weitere Einzelheiten siehe KESSLER 1980.

2.2.5.3. Radioimmunoassay

Die eingedampften Hormone wurden radioimmunologisch mit den oben beschriebenen Tracer- und Antiserumlösungen bestimmt. Nach 16 Stunden Inkubationszeit wurde der Assay mit 500 ul Norite-Suspension abgestoppt. Nach dem Zentrifugieren wurde der Überstand in Zählröhrchen mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit abgegossen.

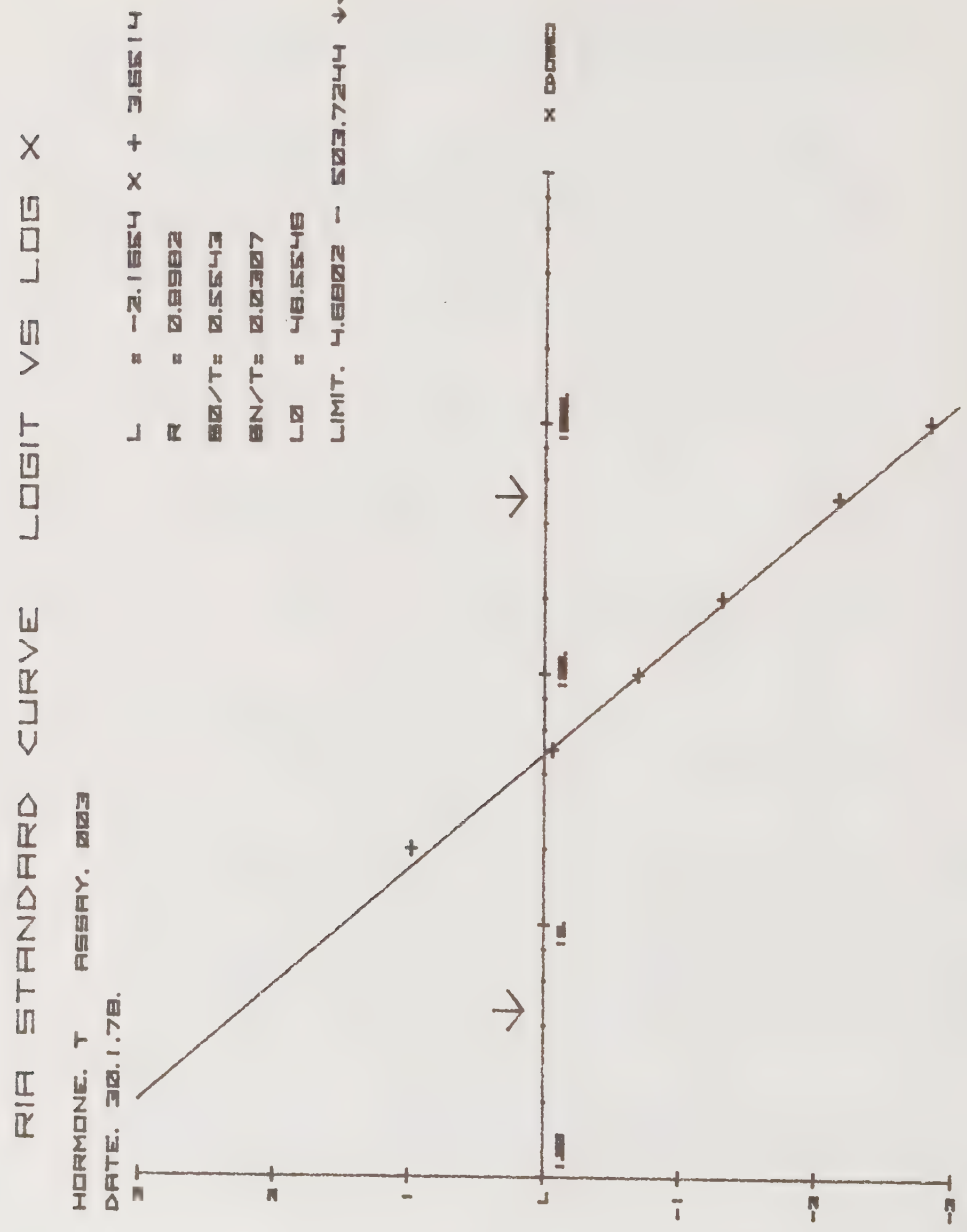
Die Messung der Radioaktivität wurde in einem Liquid Scintillation Counter der Firma Nuclear Chicago vorgenommen (Modell ISOCAP 300). Jede Probe wurde 2 Minuten gezählt. Bei der Messung der Recovery-Proben wurde wegen der niedrigen Zerfallszahl(200-600 cpm) eine Zählzeit von 10 Minuten gewählt.

2.2.5.4. Auswertung der Daten

Die ausgedruckten Ergebnisse wurden mit Hilfe eines Hewlett Packard 9810 A-Tischrechners, der mit einem nach Angaben unseres Labors bei Hewlett & Packard entwickelten Rechenprogramms rechnet, weiterverarbeitet.
Dabei wurde zunächst die Standardkurve in logit/log Transformation errechnet(nach RODBARD und LEWALD,1970) und auf dem Plotter graphisch dargestellt. Die Messwerte der Proben wurden dann als Mittelwerte der Doppelbestimmungen durch Interpolation an diesen Standardkurven ermittelt und ausgegeben unter Berücksichtigung der jeweiligen Recovery.

Abbildung 2 zeigt den Plotter-Ausdruck der Standardkurve eines Testosteron-Assays.

Abbildung 2: Plotter-Ausdruck der Standard-kurve eines Testosteron-Assays.



2.2.6. Qualitätskontrolle

Zur Präzisionskontrolle wurden die Inner- und Interassay-Variationskoeffizienten berechnet.
Zur Berechnung des Innerassay-Variationskoeffizienten wurden die Messergebnisse des ersten Vorversuches herangezogen (siehe auch 2.2.4.1.), der Interassay-Variationskoeffizient wurde mit Hilfe der Messwerte der Kontrollseren, deren Androgene in jedem Assay mitbestimmt wurden, berechnet.

	Variationskoeffizient	
	Inner-Assay	Inter_Assay
T	6%	11%
DHT	4,5%	14%

Die Richtigkeit der Messungen wurde mit Wiederfindungsexperimenten kontrolliert: Kontrollseren wurde eine bekannte Menge des zu messenden Steroids zugegeben (siehe auch 2.2.4.1.). Der dann gemessene Wert wurde mit dem Erwartungswert verglichen).

Kreuzreaktionen: Für die radioimmunologische Bestimmung von T und DHT wurde ein gemeinsamer Antikörper verwendet. Das Fehlen eines spezifischen Antikörpers für T und DHT machte deshalb eine säulenchromatographische Trennung der beiden Androgene erforderlich.

Die Reaktion des Antikörpers mit Testosteron betrug 1oo%. Die Kreuzreaktion des Antikörpers mit DHT betrug 7o%, mit DHEA betrug sie 6%, während sie sich bei den übrigen Steroiden auf unter 1% belief..

3. ERGEBNISSE

3.1. Ergebnisse der Vorversuche

24 gesunden Frauen zwischen 2o und 4o Jahren mit normalem Zyklusgeschehen wurde Blut zwischen dem 5. und 28. Tag entnommen.

Die Bestimmung von Testosteron und Dihydrotestosteron erbrachte folgende Durchschnittswerte:

T : o,195+-o,o89 ng/ml
DHT : o,31o+-o,o89 ng/ml

Vergleicht man die Hormonkonzentrationen während der Follikelphase mit denen während der Lutealphase, erhält man folgende Durchschnittswerte:

T :	Follikelphase	: o,2oo ng/ml
	Lutealphase	: o,189 ng/ml
DHT :	Follikelphase	: o,317 ng/ml
	Lutealphase	: o,3o5 ng/ml

Diagramm 3 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von T und DHT in einem Normalkollektiv von 24 gesunden Frauen.

Diagramm 3.1.: Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von Testosteron bei 24 gesunden Frauen.

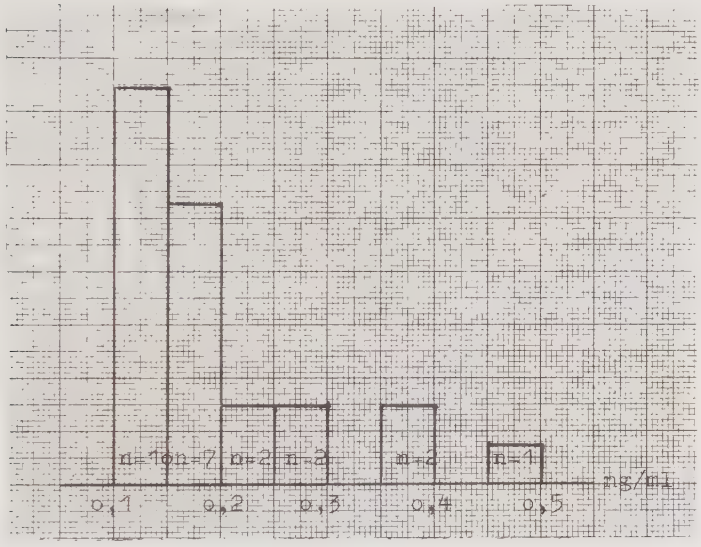
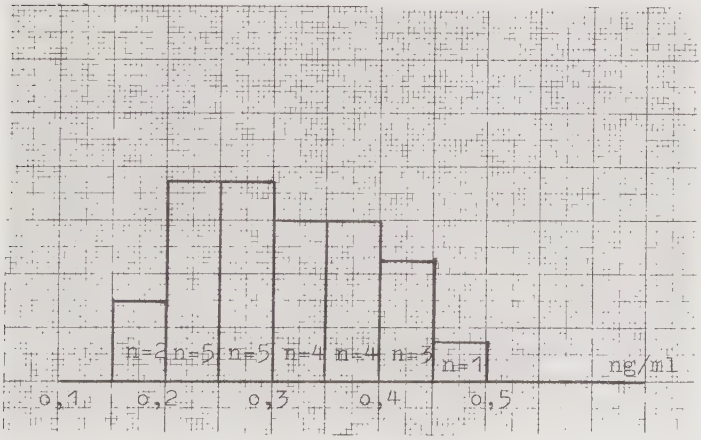


Diagramm 3.2.: Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von Dihydrotestosteron bei 24 gesunden Frauen.



3.2. Ergebnisse der Hauptversuche

Testosteron und Dihydrotestosteron im Plasma hirsuter Frauen wurden vor, während und nach der Therapie mit Cyproteronacetat und Äthinylöstradiol bestimmt. Statistische Bewertungen der Ergebnisse wurden mit dem gepaarten bzw. ungepaarten student-t_test vorgenommen.

Eine Übersicht über Proben- und Patientinnenanzahl gibt folgende Aufstellung:

Testosteron:	vor Therapie	:59	Proben von	55	Pat.
	während "	:78	" "	59	"
	nach "	:37	" "	31	"
Dihydrotest.:	vor Therapie	:57	" "	53	"
	während "	:78	" "	57	"
	nach "	:38	" "	31	"

Tabelle 1 gibt die durchschnittlichen T- und DHT-Konzentrationen wieder. Gleichzeitig wurden die Signifikanzgrade der Hormonabfälle während Therapie bzw. der Hormonanstiege nach Therapie angegeben.

Tab. 1 : Durchschnittliche Plasmakonzentrationen von T und DHT bei hirsuten Frauen vor, während und nach Therapie:

	vor Th.	Signif.	während Th.	Sign.	nach Th.
T	o,41+-o,14 n=59	o,oo1	o,27+-o,o9 n=78	o,oo1	o,43+-o,15 n=39
DHT	o,47+-o,15 n=57	o,oo1	o,34+-o,11 n=78	o,oo1	o,45+-o,16 n=38

Sowohl die Plasmakonzentrationen von T und DHT vor Therapie als auch nach Therapie waren im Durchschnitt signifikant höher als die Durchschnittswerte des Normalkollektives.
Testosteron war sogar noch unter Therapie im Durchschnitt signifikant erhöht.
Die statistischen Berechnungen wurden hier mit Hilfe des ungepaarten student-t-Tests durchgeführt.

Von 54 Patientinnen wurden die Plasmakonzentrationen von T und DHT sowohl vor als auch während der Therapie bestimmt. Gleichzeitig wurden CortisoI, die 17-Ketosteroide, LH und FSH bestimmt. Tab. 2 (S26 ff) gibt die ermittelten Werte wieder.

Tabelle 3 gibt die Durchschnittswerte der Plasmakonzentrationen von T und DHT vor und während Therapie bei diesen 54 Patientinnen wieder. Zusätzlich ist die Signifikanz des Androgenabfalls unter Therapie, die diesmal mit dem gepaarten t-Test berechnet wurde, angegeben.

Tabelle 3 :

	vor Ther.	Signifikanz p	währ. Ther.
T	o,49+-o,33	o,oo1	o,26+-o,1o
DHT	o,51+-o,19	o,oo1	o,34+-o,12

Tab. 2: Konzentrationen von T, DHT, Cortisol, 17-KS, LH und FSH vor und während Therapie.

Pat.Nr.	T(v-w)		DHT(v-w)		Cort(v-w)		17-KS(v-w)		FSH(v-w)		LH(v-w)	
1	o,48	o,29	o,47	o,22	81	45o	18,1	14,1	114	9	76	15
2	o,36	o,2o	o,85	o,74	58	211			88			
3	o,4o	o,19	o,34	o,21	17o	24o	2o,1			8		35
		o,32		o,33		35o				2o		1
4	o,35	o,37	o,55	o,37	133	364	15,o		313	33	56	6
	o,37		o,45		188						53	
5	o,59	o,28	o,67	o,43	98	226	11,6			o		14
6	o,41	o,15	o,41	o,15	7o	186			91	o	43	3
7	o,42	o,34	o,32	o,29	1o3	154	17,5					52
8	o,63	o,33	o,49	o,38	116	184	28,5		131	249	76	7
9	2,53	o,18	1,o7	o,35	61	182			5o	o	25	24
1o	o,34	o,28	o,37	o,33	52o		16,1		17o			
11	o,3o	o,35	o,51	o,41	47o		13,1			117		
12	o,42	o,26	o,51	o,38	34o		7,6		11	46	25	21
13	o,23	o,13	o,4o	o,37	292	389	1o,5					5
14	o,62	o,37	o,89	o,5o	156	194	18,7		152	4	73	14
15	o,53	o,23	o,8o	o,39	193	139			67	o	52	14
16	o,33	o,o7	o,37	o,11	63	186	13,o		55	36	19	18
		o,26		o,19		3o1						
17	o,6o	o,24	o,52	o,23	129		9,6		12o	39	32	18
18	o,33	o,14	o,36	o,24	83	132	8,8			33	77	14
19	o,38	o,16	o,38	o,13	136	17o	8,2		216	59	183	38

Tab. 2 (Fortsetzung): Konzentrationen von T, DHT, Cortisol, 17-KS, LH und FSH vor und während Therapie.

Pat.Nr.	T(v-w)		DHT(v-w)		Cort(v-w)		17-KS(v-w)		FSH(v-w)		LH(v-w)	
2o	o,43	o,15	o,6o	o,17								
		o,15		o,2o	153	167	12,9		131		31	31
						136						11
21	o,2o	o,29	o,29	o,27	92	196	13,1		99		18	73
22	o,39	o,23	o,47	o,25	94	136			77	37	4o	6
23	o,35	o,19	o,36	o,25	13o	369	12,2	7,6	158		42	24
		o,26		o,24		2o8				15o		2o
24	1,o5	o,36	o,48	o,36	49	182	13,5		2o6		48	
		o,24		o,19		165				2o		9
25	o,33	o,2o	o,46	o,43	315	421	9,9			16	97	7
26	o,46	o,31	o,81	o,29	211	3o3		11,3	284	3o	52	16
27	o,44	o,15	o,59	o,28	124	235	14,4	14,3	282	29	73	8
28	o,24	o,27	o,32	o,23	242	357	18,4	35,o	95	79	32	
29	o,45	o,25	o,18	o,16	149	264	15,9	16,4		89	77	16
3o	o,39	o,13	o,26	o,31						13	4o	21
		o,18		o,29						283		182
31	o,49	o,36	o,71	o,48	185	254	11,3			8		9
		o,26		o,54		16o				95		13
32	o,56	o,17	o,88	o,43	87	364			66	33		64
33	o,16	o,11	o,33	o,3o			4,1		195	124	69	36
34	o,24	o,13	o,44	o,33	385		21,9		41		36	
	o,17		o,23		45				113		99	
35	o,5o	o,31	o,63	o,23	315	57o		15,1	1oo	26	55	16
36	o,59	o,34	o,57	o,4o	235				1o7		46	42
37	o,29	o,21	o,28	o,5o	47o		17,o		425	71	41o	33

Tab. 2 (Fortsetzung): Konzentrationen von T, DHT, Cortisol, 17-KS, LH und FSH vor und während Therapie.

Pat.Nr.	T(v-w)		DHT(v-w)		Cort(v-w)		17-KS(v-w)		FSH(v-w)		LH(v-w)	
38	o,71	o,15	o,68	o,38	36o	271		22,7	69	42	29	3o
39	o,48	o,55	o,54	o,43	262	59o	7,4		57	2	29	
		o,43		o,38		557				41		7
4o	o,5o	o,44	o,66	o,53	181	383	3o,7		136	o	62	12
		o,33		o,4o		158				391		23
41	o,88	o,44	o,53	o,47	161	181	18,5		61	1o3	112	79
42	o,35	o,16	o,41	o,22	1o9	2o7	8,8		141	42	22	17
43	o,44	o,2o	o,64	o,34	15o	27o	16,2		178	44	18	4
44	o,52	o,53	o,33	o,29	1oo	592	18,6	17,1	176	94	68	61
45	o,42	o,32	o,26	o,16	132	262	8,3		116	146	71	38
		o,45		o,31		545				54		13
46	o,33	o,12	o,55	o,24	83	72	3,5				157	3o
		o,18		o,21		98				5o		25
47	o,7o	o,23	o,44	o,2o	98	33o	1o,6				156	29
		o,43		o,24		118		7,8		3o		6
48	o,7o	o,36	o,42	o,34	2o5	365			559	1o4	57	36
		o,26		o,24		425				39		
49	o,29	o,o7	o,33	o,39	28o	29o	1o,8		53	o	24	31
		o,15		o,24		63o				43		4
5o	o,34	o,12	o,65	o,66	181	144	16,o		9o	1o		7
51	o,31	o,34	o,28	o,25	173	471	9,4		112		31	3o
52	o,73	o,37	o,4o	o,34	279	541					25	1o
		o,36		o,4o		6o7				47		13
53	o,37	o,21	o,6o	o,43	96	232			416	8	162	
54	o,56	o,35	o,55	o,48	211	4o8			153	23	155	1

In Diagramm 4a und 4b ist die Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von Testosteron vor und während Therapie bei 54 Patientinnen dargestellt.

Diagramm 5a und 5b zeigt das gleiche für Dihydrotestosteron.

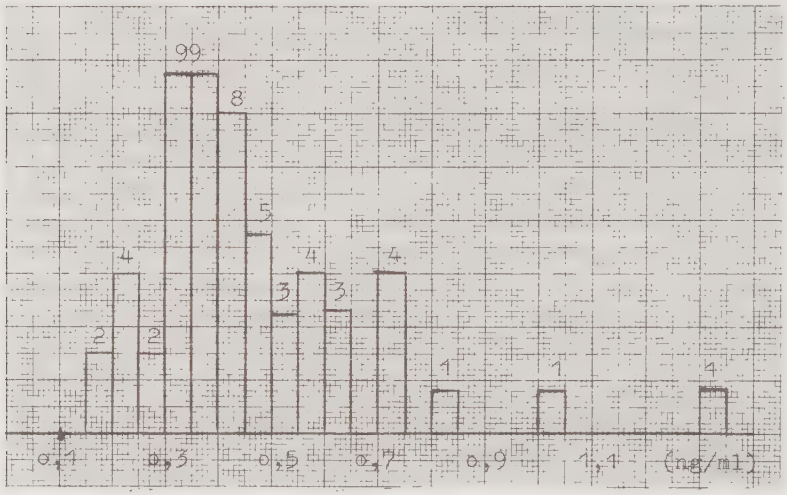
In Tabelle 4 ist die Anzahl der erhöhten T- bzw. DHT-Plasmakonzentrationen vor und während Therapie dargestellt. Zusätzlich ist die Anzahl der signifikanten T- und DHT-Abfälle unter Therapie angegeben.
Als erhöht wurden all jene Werte betrachtet, die oberhalb des Bereiches $\bar{x}+2\sigma$ des Normalkollektives lagen - bei Testosteron also oberhalb o,373 ng/ml, bei DHT oberhalb der Konzentration von o,488 ng/ml.
Als signifikanter Abfall wurde eine Abnahme der Hormonkonzentration von mehr als dem zweifachen Inter-assay-Variationskoeffizienten angesehen - bei T also eine Abnahme von mehr als 25%, bei DHT eine Abnahme von mehr als 3o%.

Tab. 4 : Anzahl der erhöhten T- und DHT-Plasmakonzentrationen vor und während Therapie, sowie Anzahl der signifikanten Abfälle unter Therapie.

	vor Therapie erhöht	während Th. erhöht	signif. Abfälle
T	34 (63%)	6(10%)	44 (81%)
DHT	26 (48%)	5(9%)	26 (48%)
T u.DHT gemeins.	2o(37%)	o	25 (46%)

Diagramm 4a und 4b: Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von Testosteron vor und während Therapie bei 54 Patientinnen.

4.a: vor Therapie: n=56



4.b: während Therapie n=69

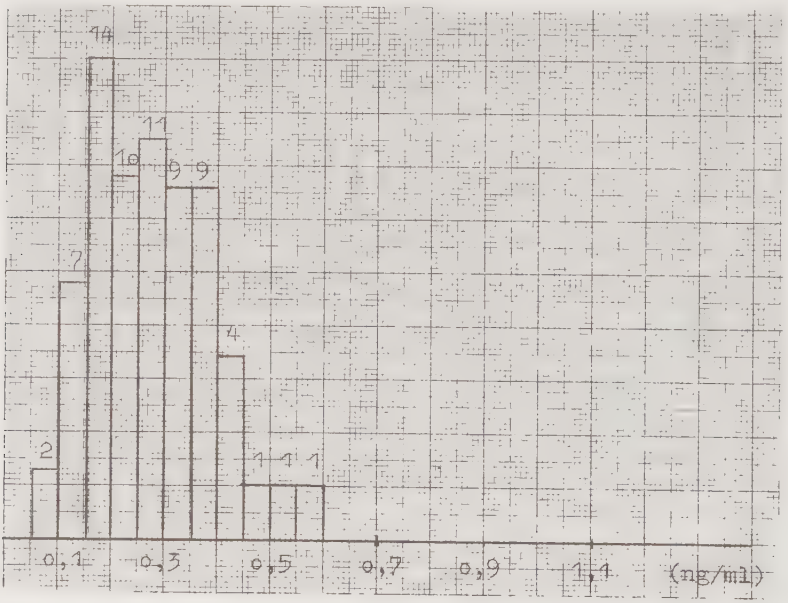
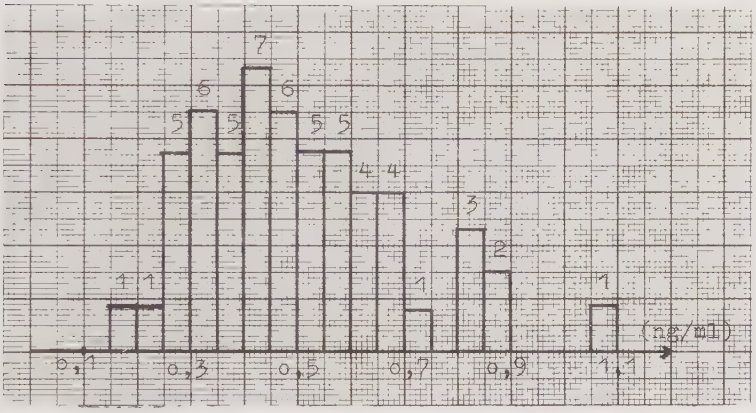
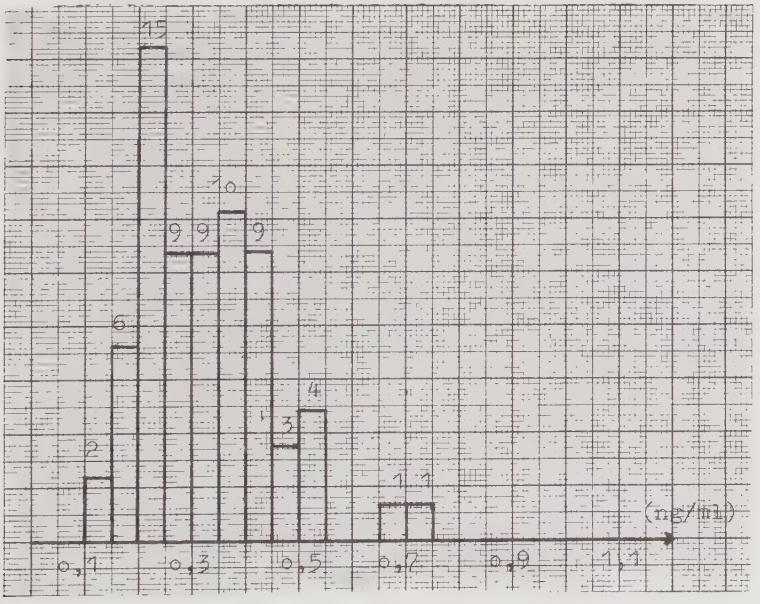


Diagramm 5a und 5b: Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen von Dihydrotestosteron vor und während Therapie bei 54 Patientinnen.

a. vor Therapie n=56



b. während Therapie n=69



Patientinnen mit erhöhten Testosteronwerten vor Therapie hatten in 9o% der Fälle (3o von 34) signifikant niedrigere Werte unter Therapie, erhöhte DHT-Werte fielen in 5o% der Fälle unter Therapie signifikant ab (13 von 26).

Von 14 Patientinnen wurden die Plasmakonzentrationen von T und DHT sowohl während als auch nach Therapie bestimmt. Zusätzlich wurden Cortisol, die 17-Ketosteroide, LH und FSH bestimmt. Tabelle 6 gibt die ermittelten Werte wieder. Dabei wurden Patientinnen, die sich nicht in Tabelle 2 wiederfinden, mit "x" gekennzeichnet.

Die durchschnittlichen T- und DHT-Konzentrationen dieses Patientenkollektives sind Tabelle 5 zu entnehmen:

Tab. 5 : Durchschnittliche T- und DHT-Plasmakonzentration von 14 Patientinnen während und nach Therapie.

	während Th.	nach Th.	Signifikanz d. Anstiegs
T	o,3o+-o,o8	o,39+-o,19	n.s.
DHT	o,38+-o,12	o,45+-o,21	n.s.

Tab. 6: Konzentrationen von T, DHT, Cortisol, 17-KS, FSH und LH während und nach Therapie.

Pat.Nr.	T(v-w)		DHT(v-w)		Cort.(v-w)		17-KS(v-w)		FSH(v-w)		LH(v-w)	
48	o,36	o,54	o,34	o,41	365	135			1o4		36	
	o,26		o,24		425				39			
35	o,31	o,52	o,23	o,57	57o	27o	15,1	11,8	26	94	16	54
1o	o,28	o,19	o,33	o,34		32o						
		o,33		o,3o								
11	o,35	o,54	o,41	o,6o		62o			117	75		77
		o,7o		o,68				12,2				
37	o,21	o,11	o,5o	o,15		245						
									71	142	33	67
x	o,29	o,32	o,43	o,39	178	79	12,o		o	57	12	
x	o,49	o,32	o,54	o,5o	271	22o			85	87	18	44
14	o,37	o,42	o,5o	o,74	194	219			4	112	14	65
x	o,3o	o,5o	o,27	o,36	284	194			5		15	27
21	o,29	o,31	o,27	o,27	194	4o8					73	28
54	o,35	o,27	o,48	o,5o	4o8	156			23	366	1	119
9	o,18	o,81	o,35	o,86	182	194			o	539	24	132
29	o,25	o,26	o,16	o,17	264	2o4	16,4	1o,3	89	48	16	53
x	o,17	o,12	o,43	o,35	364	236			33		64	

Der zeitliche Verlauf der Plasmakonzentrationen von T und DHT während Therapie ergibt sich aus Tabelle 7. Die Durchschnittswerte beziehen sich dabei auf das auf Seite24 beschriebene Gesamtkollektiv.

Tab. 7 : Zeitlicher Verlauf der T- und DHT-Konzentrationen während Therapie.

	1.-3.Mon.	4.-6.Mon.	7 Mon. u. länger	Gesamtdurchschn.
T	o,27+-o,11 n=36	o,29+-o,14 n=1o	o,28+-o,1o n=26	o,27+-o,o9
DHT	o,33+-o,1o n=36	o,31+-o,o8 n=9	o,34+-o,11 n=24	o,34+-o,11

Der zeitliche Verlauf der Plasmakonzentrationen von T und DHT nach der Therapie ist in Tabelle 8 dargestellt. Die Werte beziehen sich wieder auf das Gesamtkollektiv (s.o.).

Tab. 8: Zeitlicher Verlauf der T- und DHT-Konzentrationen nach Therapie.

	bis 2 Mon. nach Th.	länger als 2 Mon. nach Th.	Gesamtdurchschnitt
T	o,36+-o,14 n=2o	o,49+-o,18 n=18	o,43+-o,15
DHT	o,39+-o,16 n=2o	o,48+-o,13 n=17	o,45+-o,16

Die Patientinnen wurden nach ihrem klinischen Erscheinungsbild eingeteilt. Grundlage hierfür waren die Daten eines kurzen Erhebungsbogens, der für diese retrospektive Studie angefertigt worden war (siehe nächste Seite)

Aufgrund der Ausprägung der Gesichts-, Körper-, Bein- und Schambehaarung wurden die Patientinnen in 3 Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1 : leichter Hirsutismus
Gruppe 2 : mittelschwerer Hirsutismus
Gruppe 3 : schwerer Hirsutismus

Eine weitere Gruppe von Patientinnen konnte retrospektiv nicht mehr klassifiziert werden.
Die einzelnen T- und DHT-Konzentrationen der Patientinnen sind in Tab. 2 aufgeführt.

Tab. 9 und 1o geben die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen von T und DHT dieser 4 Gruppen vor und während Therapie wieder. Zusätzlich wurde der durchschnittliche prozentuale Abfall der Androgene unter Therapie angegeben.

Tab. 9 : Testosteron

Gruppe	Zahl d. Pat.	vor Th.	während Th.	Proz. Abfall
1	9	o,46+-o,1o	o,27+-o,o8	-41%
2	24	o,42+-o,18	o,23+-o,o7	-45%
3	11	o,49+-o,2o	o,31+-o,14	-37%
4 nicht klass.	1o	o,58+-o,15	o,25+-o.o8	-57%
insges.	54	o,49+-o,33	o,26+-o,1o	-47%

lfd.Nr.: H-Nr.:

Name: geb.: Staatsang.:

Gr.: Gew.: Alter.:

Prob.Nr.:				
Entnahmedatum				
Therapieart				
vor				
während				
nach				
zwischen				
Tage seit LP				
Periode:(Zykl/Blut)				
Stärke				
BT:(mo/bi)				
regelmäßig				
Beschwerden				
Menarche				
Amenorrhoe				
Schwangersch.(Zeitp.)				
Medikamente				
Seborrhoe				
Alopecie				
Gesichtsbehaar.				
Körper				
Beine				
Schambehaar.				
Akne (Lokalis.)				
Ovarien				
Äuß.Genitale				
Uterus				
Mammae				

Tab. 1o: DHT

Gruppe	Zahl d. Pat.	vor Th.	während Th.	proz.Abfall
1	9	o,57+-o,25	o,36+-o,17	-39%
2	24	o,5o+-o,19	o,31+-o,11	-38%
3	11	o,51+-o,15	o,37+-o,o9	-28%
4 nicht klass.	1o	o,48+-o,18	o,3o+-o,15	-54%
insges.	54	o,51+-o,19	o,34+-o,12	-33%

Die Plasmakonzentrationen von T lagen bei den Frauen mit leichtem bzw. schwerem Hirsutismus während Therapie signifikant höher als die Werte des Normalkollektivs.

In Tabelle 11 und 12 sind die Prozentsätze der erhöhten T- und DHT-Plasmakonzentrationen vor und während Therapie sowie die Prozentsätze der signifikanten Androgenabfälle unter Therapie bei Frauen mit leichtem, mittelschwerem und schwerem Hirsutismus angegeben:

Tab. 11: Testosteron

Gruppe	vor Therapie erhöht	während Th. erhöht	signifik. Abfälle
1	78% (7)	11% (1)	78% (7)
2	58% (14)	o%	88% (21)
3	63% (7)	36% (4)	72% (8)
insgesamt	63% (34)	9% (5)	81% (44)

Tab. 12: Dihydrotestosteron

Gruppe	vor Therapie erhöht	während Th. erhöht	signifik. Abfälle
1	56% (5)	11% (1)	44% (4)
2	42% (1o)	8% (2)	62% (15)
3	63% (7)	9% (1)	45% (5)
insgesamt:	48% (26)	9% (5)	48% (26)

Desweiteren wurden die Androgenplasmakonzentrationen bei Patientinnen ohne Besserung mit denen von Patientinnen mit leichter bzw. guter Besserung verglichen:

Tab. 13a und 13b : Plasmakonzentrationen von T und DHT vor und während Therapie sowie durchschnittlicher Abfall unter Therapie in Abhängigkeit von der klinischen Besserung.

Tab. 13a: Testosteron

	Zahl d. Pat.	vor Th.	währ. Th.	%-Abfall
ohne Bess.	15	o,46+-o,21	o,26+-o,13	-44%
leichte Bess.	14	o,44+-o,24	o,27+-o,11	-39%
gute Bess.	21%	o,42+-o,18	o,26+-o,12	-37%

Tab. 13b: Dihydrotestosteron

	Zahl d. Pat.	vor Th.	währ. Th.	%-Abfall
ohne Bess.	15	o,54+-o,24	o,31+-o,1o	-45%
leichte B.	14	o,43+-o,19	o,37+-o,11	-37%
gute Bess.	21	o,46+-o,17	o,34+-o,14	-27%

Tab.14a u. b: Anzahl der erhöhten Plasmakonzentrationen von T und DHT während Therapie und der signifikanten Abfälle unter Therapie in Abhängigkeit von der klinischen Besserung.

Tab. 14a: Testosteron

	Zahl d. Pat.	sign. Abfälle	nicht sig. Abfälle	währ. Th. erhöht
ohne Bess.	15	12	3	2
mit Bess.	35	29	6	3
ohne Angabe	4	3	1	1
insgesamt	54	44	1o	6

Tab. 14b: Dihydrotestosteron

	Zahl d. Pat.	sign. Abfälle	nicht sig. Abfälle	währ. Th. erhöht.
ohne Bess.	15	1o	5	1
mit Bess.	35	16	19	4
ohne Angabe	4	o	4	o
insgesamt	54	26	28	5

Neben den Androgenen wurde auch das Cortisol im Plasma der Patientinnen mit einem Radioimmunoassay-Kit bestimmt . ("Gammacoat J Cortisol" der Firma Clinical Assays, Cambridge, Massachusetts).

Als Normalbereich der Cortisol-Plasmakonzentrationen werden bei diesem Kit angegeben:

morgens: 7o-25o ng/ml
abends : 2o-9o ng/ml

Da bei den hier untersuchten Patientinnen die Blutentnahmen i.a. morgens erfolgten, wurde der Bereich von 7o-25o ng/ml als Normalbereich angesehen.

Tabelle 15 gibt die durchschnittlichen Cortisol-Konzentrationen sowie die Anzahl der erhöhten Werte vor und während Therapie wieder.

Tab. 15:

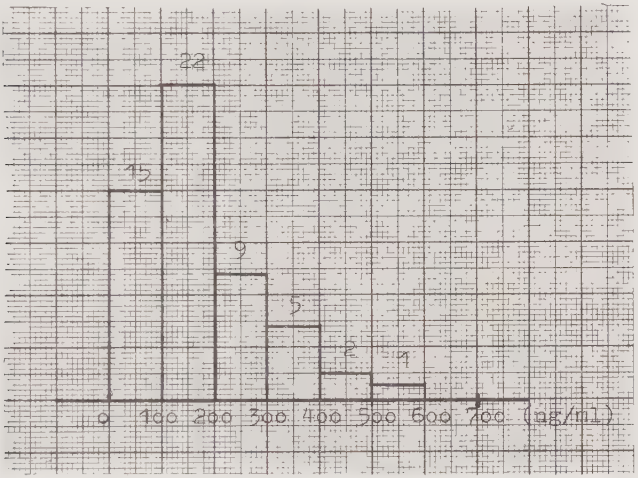
	vor Therapie	während Therapie
durchschnittl. Cortisol-Konz.	182+-113 n=54	291+-149 n=58
Anzahl d. erhöht. Werte	12 (22%)	3o (52%)

Die Werte während Therapie waren signifikant höher als die Werte vor Therapie.

Diagramm 6 gibt die Häufigkeitsverteilung der Cortisol-Plasmakonzentrationen vor und während Therapie wieder (siehe nächste Seite).

Diagramm 6: Häufigkeitsverteilung der Cortisol-Plasmakonzentrationen vor und während Therapie.

a. vor Therapie



b. während Therapie

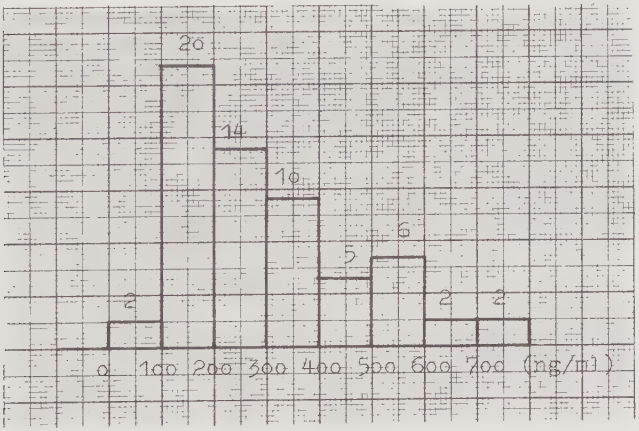


Tabelle 16 und 17 zeigen die gekreuzten Häufigkeiten der einzelnen T- und DHT-Plasmakonzentrationen gegen die Cortisol-Plasmakonzentrationen. Dabei wurden die einzelnen Cortisolkonzentrationen in 3 Bereiche eingeteilt:

bis 16o ng/ml : unterer Normbereich
16o-25o ng/ml : oberer Normbereich
über 25ong/ml : erhöhte Werte

Tab. 16: Gekreuzte Häufigkeit Cortisol- gegen Testosteronplasmakonzentration.

		Testosteron					
		-o,2	o,2-o,4	o,4-o,6	o,6-o,8	o,8-1,o	1,o
Cortisol	-16o	1(2%)	11(2o%)	11(2o%)	4(7%)	----	2(5%)
	16o-25o	----	4(7%)	7(13%)	1(2%)	1(2%)	-----
	25o	----	8(15%)	2(4%)	2(4%)	----	-----

Tab. 17: Gekreuzte Häufigkeit Cortisol- gegen DHT-Plasmakonzentration.

		Dihydrotestosteron					
		-o,2	o,2-o,4	o,4-o,6	o,6-o,8	o,8-1,o	1.o
Cortisol	-16o	1(2%)	9(17%)	11(2o%)	4(7%)	3(5%)	1(2%)
	16o-25o	----	3(6%)	5(9%)	3(5%)	2(4%)	----
	25o	----	3(6%)	7(13%)	2(4%)	----	----

Bei 12 Patientinnen war Cortisol vor Therapie erhöht (=22%). Bei 4 der Patientinnen war gleichzeitig Testosteron erhöht, T und DHT waren bei 3 dieser Patientinnen erhöht.

Von den 34 Patientinnen, die vor Therapie erhöhte T-Werte hatten, hatten 4 Frauen auch einen erhöhten Cortisolwert. 5 mal war Cortisol bei jenen 26 Frauen erhöht, die vor Therapie erhöhte DHT-Werte hatten.

Tab. 18 gibt die durchschnittlichen Cortisolkonzentrationen und die Anzahl der erhöhten Werte bei Frauen mit leichtem, mittlerem und schwerem Hirsutismus wieder (während Therapie).

Tabelle 18

	durchschn. Cort.-Konz.	Anzahl d. erh. Werte
leichter H. n=1o	1o8	o
mittl. H. n=22	192	5 (22%)
schwerer H. n=12	277	5 (42%)

Es wurden bei 38 Patientinnen vor Therapie und 1o Patientinnen während Therapie die 17-Ketosteroide im 24-Stunden-Urin mit der Zimmermann-Methode bestimmt. Die Normalwerte dieser Methode werden wie folgt angegeben:

-6mg/24Std.: erniedrigt
6-11,9mg/24Std.: untere Norm
12-15,9mg/24Std.: obere Norm
16mg/24Std.: erhöht

Es ergaben sich folgende Durchschnittswerte:

vor Therapie: 13,7mg/24Std. n=38
während Therapie: 16,1mg/24Std. n=1o

Tabelle 19 zeigt die Häufigkeit der gemessenen 17-Ketosteroide in den verschiedenen Bereichen, zusätzlich wurde die Anzahl der dabei gleichzeitig erhöhten T- bzw. DHT-Plasmakonzentrationen angegeben.

Tabelle 19

	Anzahl d.17-KS-Werte	dabei erh. T-Werte	dabei erh. DHT-Werte
-6mg/24h:	2	o	1
6-11,9mg/24h:	14	8	5
12-15,9mg/24h:	9	4	4
16mg/24h :	13	8	6

Von den 34 Patientinnen, die vor Therapie erhöhte T-Konzentrationen hatten, war bei 8 von ihnen auch der 17-KS-Wert erhöht.

Bei 6 der 26 Patientinnen mit erhöhter DHT-Konzentration vor Therapie waren auch die 17-KS erhöht.

Tab. 2o gibt die Anzahl der 17-KS-Werte in den verschiedenen Bereichen und die Anzahl der dabei gleichzeitig erhöhten Cortisol-Werte wieder.

	Anzahl d. 17-KS-Werte	dabei erhöhte Cort.-Werte
-6mg/24h	2	o
6-11,9 mg/24h	14	5
12-15,9mg/24h	9	1
16 mg/24h	13	3

Die Bestimmung der Gonadotropine LH und FSH ergab folgende Durchschnittswerte vor und während Therapie, die in Tabelle 21 aufgeführt sind - zusätzlich ist die Anzahl der erhöhten Werte vor und während Therapie angegeben.

Tabelle 21:

	vor Th.	währ. Th.	Signif.d. Abfalls	Anzahl d.erh. W. vor Th.	währ.Th.
LH n=41	69+-68	22+-16	o,oo1	7	1
FSH n=22	156+-137	45+-39	o.oo1	3	o

Die Signifikanz des Abfalls wurde mit dem gepaarten t-Test errechnet.

Durchschnittliche Gonadotropinkonzentration in einem Normalkollektiv:

LH : 4o-1oo
FSH: 1oo-4oo

Bei den 6 Patientinnen mit erhöhten LH-Spiegeln war 5 mal auch T erhöht, DHT war 4 mal erhöht.
Bei den 3 Patientinnen mit erhöhten FSH-Spiegeln war 2 mal auch T erhöht, DHT war einmal erhöht.
Bei den Patientinnen mit erhöhten T- bzw. DHT-Spiegeln unter Therapie waren weder LH noch FSH während Therapie im Durchschnitt signifikant höher als bei den Patientinnen mit normalen T-bzw. DHT-Werten unter Therapie.

Die klinischen Daten wurden von 54 Patientinnen erhoben und ausgewertet. Bei 46 Patientinnen war die Diagnose "Idiopathischer Hirsutismus" gestellt, 6 Patientinnen hatten vergrösserte Ovarien, wovon bei 2 Patientinnen Verdacht auf ein Stein-Leventhal-Syndrom bestand. Bei einer Patientin wurden die NNR als Ursache ihrer Krankheit diagnostiziert, bei einer weiteren Patientin war eine Keilresektion nach festgestelltem Stein-Leventhal-Syndrom durchgeführt worden.

Tabelle 22 gibt Auskunft über die Anzahl der verschiedenen Hirsutismus-Schweregrade vor Therapie und über Häufigkeit und Ausmass der Besserung während Therapie.

Tabelle 22:

Schweregrad	Zahl d. Pat.	leichte Bess.	deutl. Bess.	keine Bess.	ohne Verlaufskontr.
leichter H.	9	1	6	2	-----
mittelschw.H.	24	5	1o	9	-----
schwerer H.	11	5	2	4	-----
nicht klassif. Hirs.	1o	3	3	--	4
insgesamt:	54	14	21	15	4

Von den 54 Patientinnen hatten 36 (=67%) gleichzeitig eine Akne, 18 Patientinnen waren frei von Akne(=33%). Tabelle 23 zeigt die Verteilung der unterschiedlichen Akne-Schweregrade vor Therapie und Ausmass und Häufigkeit der Besserung unter Therapie.

Tabelle 23:

Ausprägung d.Akne	Zahl d. Pat.	leichte Bess.	deutl. Bess.	keine Bess.	keine Angaben
leichte A.	15	1	13	--	1
mittlere A.	18	2	15	1	--
starke A.	3	--	2	1	--
insgesamt:	36	3	3o	2	1

16 der 54 Patientinnen litten gleichzeitig unter einer unterschiedlich starken Alopezie.

Tabelle 24 zeigt Häufigkeit und Ausmass der Besserung unter Therapie.

Tabelle 24:

Ausprägung d.Alopezie	Zahl d. Pat.	leichte Bess.	deutl. Bess.	keine Änderung
leichte A.	7	2	3	2
mittlere A.	3	-	3	--
starke A.	6	1	4	1
insgesamt:	16	3	1o	3

31 Patientinnen wiesen neben ihrer hirsuten Symptomatik auch eine Seborrhoe auf.

Tabelle 25 zeigt Ausmass und Häufigkeit der Besserung unter Therapie.

Tabelle 25 :

Ausmass d. Seborrhoe	Zahl d. Pat.	leichte Bess.	gute Bess.
leichte S.	15	5	1o
mittlere S.	13	1	12
starke Seb.	3	--	3
insgesamt:	31	6	25

4. DISKUSSION

Die Entwicklung geeigneter Messmethoden für die Bestimmung der Androgene (Gaschromatographie, Doppelisotopenmethode und v.a. Radioimmunoassay) brachte es in den letzten Jahren mit sich, dass die Bestimmung der verschiedenen Androgenmetaboliten bei Frauen mit sogenanntem "Idiopathischen Hirsutismus", zum Gegenstand zahlreicher Untersuchungen wurde, deren Ergebnisse uns die endokrinologischen Fehlregulationen dieser für die betroffenen Frauen oft schwerwiegenden Erkrankung heute besser verstehen lassen.

So scheint die hirsute Symptomatik bei einer unterschiedlichen Anzahl von Frauen Ausdruck eines mehr oder weniger ausgeprägten Hyperandrogenismus zu sein; Verschiedene Untersuchungen fanden signifikante Erhöhungen der durchschnittlichen Plasmakonzentrationen von Testosteron und Dihydrotestosteron bei hirsuten Frauen (2, 12,25,27,39,45,5o,53,66).
ABRAHAM et al. (1976) fanden T in 6o%, DHT sogar in 75% der Fälle erhöht, in einer anderen Untersuchung fanden sie sogar in über 8o% der Fälle T und/oder DHT erhöht. Nach den Ergebnissen anderer Autoren scheint T und DHT in mindestens der Hälfte der Fälle erhöht zu sein (16, 19,4o,44,5o,53,77). DEMISCH (1975) und andere (2o) fanden dagegen keine Erhöhung der durchschnittlichen T- und DHT-Plasmakonzentrationen, andere Autoren wiederum berichten von Werten im oberen Normbereich(29). DEHMISCH (1975) fand auch in nur 2o% der Fälle T erhöht, DHT war bei seinen untersuchten Frauen in 35% der Fälle erhöht.

Auch wir fanden in dieser Untersuchung signifikant erhöhte T- und DHT- Plasmakonzentrationen vor Therapie: Die durchschnittliche Plasmakonzentration von Testosteron vor Therapie war o,41+-o,14ng/ml, von DHT o,47+-o,15ng/ml gegenüber o,2o+-o,o9ng/ml T bzw.

o,31+-o,o9ng/ml DHT bei einem Normalkollektiv, dessen T-und DHT- Konzentrationen mit der gleichen Methode von uns bestimmt worden waren. Auch unsere Ergebnisse sprechen dafür, dass mindestens die Hälfte der Frauen erhöhte T- und/oder DHT-Spiegel zu haben scheint: Während Testosteron in 63% der Fälle erhöht war, war DHT immerhin in 48% der Fälle erhöht. Die andere Hälfte der Frauen scheint allerdings mit ihren T- und DHT-Konzentrationen voll im Normalbereich zu liegen. Ein Vergleich der absoluten Hormonkonzentrationen sowohl des Normalkollektivs als auch der hirsuten Frauen mit den Messwerten, die in anderen Untersuchungen mit zum Teil anderen Methoden veröffentlicht wurden, zeigt allerdings, dass wir Testosteron oft bis zu 5o% und mehr niedriger bestimmten, während DHT bis zu 5o% höher gemessen wurde. Diese Diskrepanz zwischen den von uns gemessenen Werten und den veröffentlichten Werten anderer Untersuchungen scheint unseres Erachtens aber von untergeordneter Bedeutung zu sein, da bei den verschiedenen angewandten Messmethoden die unterschiedlichsten Normalbereiche angegeben werden, die Höhe der angegebenen Werte also entscheidend von der angewandten Methode abzuhängen scheint. Zum anderen können gemessene Hormonkonzentrationen sowieso nur immer im Vergleich mit dem mit der gleichen Methode bestimmten Normalbereich interpretiert werden. Auch die Ergebnisse der Qualitätskontrolle gaben keinen Anlass dazu, an der Richtigkeit und Präzision der von uns angewandten Methode zu zweifeln.

Gleich an dieser Stelle sollte auf eine zusätzliche Problematik der Androgenbestimmung bzw. der Wertung der erhaltenen Ergebnisse hingewiesen werden: Verschiedene Autoren beschrieben eine circadiane Rhythmik der verschiedenen Androgene vergleichbar mit der des Cortisols mit einem Maximum morgens um 8 Uhr und einem Minimum um 2o Uhr (19,25,26,27,47,61,65). Dabei sollen

die täglichen Schwankungen von Testosteron bedeutend geringer sein als die von Androstendion (25,27,39,65). T, A und DHEA-S sollen zusätzlich zyklusabhängigen Schwankungen unterliegen mit einem Peak der Plasmakonzentrationen in der Zyklusmitte (1).
Als Konsequenz aus diesen Erkentnissen wird heute im allgemeinen eine drei- bis viermalige Blutentnahme im Verlauf eines Tages für die Bestimmung der durchschnittlichen Konzentration von T, A und DHEA-S gefordert(13, 19,27,39,61). Zusätzlich sollte die Blutentnahme nicht während der Zyklusmitte erfolgen. In dieser Untersuchung erfolgte die Bestimmung der Androgene nur von einmalig abgenommenen Blutproben, verschiedene Proben wurden zur Zyklusmitte abgenommen. Diese methodischen Unzulänglichkeiten dürften für die Gesamtaussage dieser Arbeit von keiner wesentlichen Bedeutung sein, könnten jedoch manchen weniger plausibel erscheinenden Einzelwert erklären.

Ursache der erhöhten T- und DHT-Konzentrationen bei einem Teil der hirsuten Frauen scheint u.a. eine Erhöhung der Produktionsraten der verschiedenen Androgene zu sein: KIRSCHNER et al. (43,44,45) und andere Untersucher (38,47) bestimmten die Produktionsraten der einzelnen Androgene und fanden sie häufig bei hirsuten Frauen deutlich erhöht, was sich dann häufig in erhöhten Androgenkonzentrationen niederschlug.

Versuche, die Quelle der vermehrten Androgenproduktion zu bestimmen, brachten lange Zeit keine befriedigenden Ergebnisse. Mit Hilfe von speziellen Stimulations- und Suppressionstesten glaubte man früher häufig v.a. die Nebennierenrinde - seltener die NNR und das Ovar gemeinsam - als Quelle des Hyperandrogenismus ausmachen zu können (2,3,15,26,51,66). In letzter Zeit haben diese Tests viel an Bedeutung verloren (44,45,48), nicht zuletzt wegen der Tatsache, dass Korticosteroide

auch direkt das Ovar und Östrogene auch direkt die NNR zu beeinflussen scheinen (16,26,44,45,48,57). Auch HCG scheint nicht nur das Ovar, sondern auch die NNR zu stimulieren (21). So ist es kaum erstaunlich, dass häufig gar keine eindeutige Differenzierung zwischen Ovar und NNR durch die Teste erfolgen konnte (19,5o). KIRSCHNER et al. (1976) glaubten durch selektive Katheterisierung der Ovar- und NNR-Venen in über 8o% der Fälle v.a. das Ovar, seltener das Ovar und die NNR gemeinsam als Quelle des Hyperandrogenismus ausmachen zu können. Als halbwegs gesichert kann heute gelten, dass bei hirsuten Frauen häufig eine erhöhte Androgenproduktion vorliegt - wie häufig das Ovar oder die NNR als Quelle dieser Mehrproduktion anzusehen sind, kann jedoch noch nicht endgültig beurteilt werden.

Unterscheidet man zwischen Frauen mit leichtem und Frauen mit mittelstarkem bzw. starkem Hirsutismus, so lässt sich kein Unterschied in den durchschnittlichen Androgenkonzentrationen der einzelnen Gruppen feststellen (vgl. Tabelle 9 u. 1o). Auch der Anteil der signifikant erhöhten T- bzw. DHT-Werte vor Therapie unterscheidet sich in den einzelnen Gruppen nicht wesentlich (vgl. Tabelle 11 u.12). Es scheint also keine Beziehung zwischen der Höhe der T- und DHT-Konzentrationen und dem Schweregrad des Hirsutismus zu bestehen, worauf auch schon zahlreiche andere Autoren hinwiesen (9,11, 38,5o,79). Hiervon scheinen nur die Fälle eine Ausnahme zu machen, bei denen exzessiv androgenproduzierende Tumoren zu ausgeprägten Virilisierungserscheinungen mit gleichzeitig stark ausgeprägter hirsuter Symptomatik führen.

Sowohl die Tatsache, dass eine grössere Anzahl von hirsuten Frauen durchaus normale Werte des Testosterons bzw. Dihydrotestosterons aufweist als auch die fehlende Korrelation zwischen Androgenspiegeln und Schwere der Krankheit weisen darauf hin, dass die hirsute Symptoma-

tik wohl nicht allein von der Höhe des Testosterons bzw. Dihydrotestosterons abhängig zu sein scheint:

Eine verminderte Kapazität des SHBG (sexual hormone binding globuline) und damit oft ein erhöhter Anteil des freien, biologisch aktiven Testosterons bzw. Dihydrotestosterons scheinen vielmehr häufig für die Ausprägung der hirsuten Symptomatik von Bedeutung zu sein (9, 25,35,73,77). Allein 6o-8o% von T sind z.B. normalerweise an SHBG gebunden und somit biologisch inaktiv - die ebenfalls sehr potenten Androgene DHT und Androstandiol besitzen sogar eine noch bis zu zweifach höhere Affinität zu SHBG als Testosteron. Androgene - v.a. erhöhte Spiegel - scheinen die SHBG-Synthese sogar noch zusätzlich zu supprimieren (39,47,77). Die Bestimmung des freien, ungebundenen T bzw. DHT würde aus obengenannten Gründen deshalb wichtige zusätzliche Informationen erbringen (63). So konnte z.B. GIVENS 1978 bei hirsuten Frauen, die normale Gesamtkonzentrationen von T und A aufwiesen, häufig eine erniedrigte SHBG-Kapazität und einen erhöhten Anteil von freiem T und A nachweisen. Damit erhöhte sich der Prozentsatz der Frauen mit abnormen Androgenspiegeln und/oder erniedrigter SHBG-Kapazität auf über 9o%.

Eine erhöhte "Metabolische Clearance Rate" der verschiedenen Androgene, wie sie bei einem unterschiedlichem Prozentsatz hirsuter Frauen gefunden wurde (25; 44,45), könnte zudem erklären, warum erhöhte Produktionsraten von Androgenen sich nicht immer in erhöhten Plasmakonzentrationen ausdrücken. Erhöhte Testosteronspiegel scheinen darüberhinaus u.a. über ihre supprimierende Wirkung auf die SHBG-Synthese zusätzlich die Metabolische Clearance Rate zu steigern (25).

Neben totalen bzw. freien Plasmakonzentrationen der verschiedenen Androgene, SHBG-Kapazität und Metabolischer Clearance Rate scheint aber auch der periphere

Metabolismus der Androgene entscheidenden Einfluss auf die Ausprägung androgenabhängiger Symptome zu besitzen: Während die periphere Umwandlung von DHEA zu T unbedeutend ist und auch Androstendiol mit 8% quantitativ keine grosse Rolle als Prähormon von T spielt (46), entstehen 5o-6o% des Testosterons durch periphere Konversion aus Androstendion (1,25,34). Bei hirsuten Frauen scheinen nur 25% des Testosterons aus Androstendion durch periphere Konversion zu entstehen (43). Es liegt deshalb die Vermutung nahe, dass der grösste Teil des Testosterons im Plasma hirsuter Frauen direkt von Ovar oder NNR in die Blutbahn sezerniert wird (38). Ausserdem scheint bei hirsuten Frauen die Umwandlung der schwachen Androgene A und DHEA in die potenten Androgene T, DHT und Androstandiol in der Haut erhöht zu sein (25,56,75). Neben den potenten Androgenen T und DHT scheinen aber auch andere Androgene (z.B. A, DHEA, Androstandiol) eine nicht unbedeutende Rolle bei der Ausprägung der hirsuten Symptomatik zu spielen (14,67) - sei es durch ihre wenn auch schwächere eigene androgene Potenz (z.B. Androstendiol) oder durch ihre schon erwähnte Funktion als wichtige Vorstufen von T und DHT (1,46). Es kann deshalb nicht überraschen, dass viele Untersucher auch A und DHEA bei hirsuten Frauen häufig erhöht fanden (2,3,27,53). So untersuchte HOLZER 198o beim gleichen Patientenkollektiv A und DHEA und kam zu vergleichbaren Ergebnissen.

Zusätzlich scheint die Reduktion des Testosterons zu Dihydrotestosteron, das zu 95% in der Peripherie aus T durch das Enzym 5a-Reduktase gebildet wird, bei hirsuten Frauen häufig erhöht zu sein (25,56). Die Bildung von DHT scheint dabei in besonders androgenabhängigen Hautarealen bedeutend höher zu sein als in anderen Gebieten (78). In-vitro Untersuchungen fanden auch in Hautarealen, die mit Akne befallen waren, eine erhöhte

5a-Reduktase Aktivität vor (14). Dieser enge Zusammenhang im Stoffwechsel von T und DHT ist auch die Erklärung dafür, dass zwischen den Konzentrationen von T und DHT bei den von uns untersuchten Patientinnen eine gewisse Korrelation besteht (p=o,54; vor Therapie).

Nach all den beschriebenen Erkenntnissen müssen also erhöhte Konzentrationen von T und v.a. DHT an den Endorganen nicht zwangsläufig mit einer Erhöhung der Konzentrationen von T und DHT oder den anderen Androgenen wie A, DHEA und Androstendiol im peripheren Blut einhergehen. Bei einem Teil der Patientinnen mit normalen Androgenspiegeln - in unserem Kollektiv hatten ja immerhin beinah die Hälfte der hirsuten Frauen normale T- bzw. DHT-Spiegel vor Therapie - müssen wohl die geschilderten Abweichungen im peripheren Metabolismus der Androgene als pathogenetisch nicht unbedeutend angesehen werden. Stets finden sich jedoch auch hirsute Frauen, bei denen all diese Parameter nicht abnorm zu sein scheinen - sodass wohl noch zusätzlich eine erhöhte (genetisch bedingte) Empfindlichkeit der Androgenrezeptoren an den Haarfollikeln bei diesen Frauen diskutiert werden muss (11). Insgesamt kann also festgestellt werden, dass die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von T und DHT bei hirsuten Frauen von nur bebegrenzter Aussagekraft ist: Mindestens 4o% der Frauen weisen durchaus normale Werte auf, das Ausmass der Androgenerhöhung scheint - von wenigen Ausnahmefällen abgesehen - kaum mit der Schwere des Hirsutismus zu korrelieren, pathogenetisch bedeutsame Veränderungen (z.B. der SHBG-Kapazität, des peripheren Androgenmetabolismus)kommen in diesen Bestimmungen nicht zum Ausdruck. Andererseits sind die verschiedensten androgenproduzierenden Tumoren sehr oft von einer exzessiven Erhöhung der verschiedenen Androgene begleitet (48). Bei geringstem Verdacht auf einen androgenproduzierenden

Tumor als Ursache eines beginnenden Hirsutismus oder einer beginnenden allgemeinen Virilisierung ist die Bestimmung der Androgene auch weiterhin als unabdingbar anzusehen. TAUBERT (1977) sieht z.B. bei einem Normalbereich für T von o,2-o,5ng/ml Werte über 1ng/ml als höchst tumorverdächtig an.

In vielen Untersuchungen werden die 17-Ketosteroide im 24-Stunden-Urin zu einer Aussage über das Ausmass des Hyperandrogenismus bei hirsuten Frauen herangezogen. Die 17-KS stellen eine Mischung aus unspezifischen Chromogenen und den sogenannten "fraktionierten 17-KS" dar, die sich wiederum aus 11-oxy-KS und 11-desoxy-KS zusammensetzen. Die 11-KS, die 1o-55% der fraktionierten 17-KS ausmachen, setzen sich aus C-21-Steroidmetaboliten und C-19-Androgenen zusammen, während die 11-desoxy-17-KS zwischen 45 und 9o% der fraktionierten 17-KS ausmachen und Steroidmetaboliten anderer peripherer Androgene darstellen. Ungefähr die Hälfte aller peripheren Androgene wird als 11-desoxy-17-KS im Urin ausgeschieden, wobei die schwachen Androgene DHEA und DHEA-S mit den höchsten Produktionsraten den Hauptanteil darstellen, während die potenten Androgene T und DHT weniger als ein Prozent der totalen 17-Ketosteroide ausmachen (53).

Verschiedene Autoren berichten von in allerdings unterschiedlichster Häufigkeit vorkommenden erhöhten 17-Ketosteroiden bei hirsuten Frauen vor Therapie (7, 11,28,35,44,52,58). So fanden z.B. BRAENDLE et al. (1976) bei 78,4% der Patientinnen die 17-KS erhöht, während DEHMISCH et al. (1975) nur bei 2o% der Frauen mit idiopathischem Hirsutismus erhöhte 17-KS feststellten. Unter Therapie scheinen die 17-KS häufig abzufallen (29, 4o,62). So beschrieben z.B . SCHINDLER et al. (1978) bei 37,3% der Frauen einen Abfall der 17-KS unter Therapie.

Von den bei uns untersuchten Frauen hatten 34% vor Therapie erhöhte 17-KS. Ein Vergleich der 17-KS mit den entsprechenden T- und DHT-Werten (vgl. Tabelle 19 und 2o) scheint aber dafür zu sprechen, dass die 17-KS im 24-Stunden-Urin keine Aussage über die Höhe der Plasmakonzentrationen von T und DHT erlauben. So hatten Frauen mit erhöhten 17-KS nicht überdurchschnittlich oft erhöhte T- und/oder DHT-Werte - ein Ergebnis, das nicht überraschen kann, wenn man daran denkt, dass T und DHT weniger als 1% der 17-KS im Urin ausmachen. Eher schon könnte man erhöhte 17-KS bei gleichzeitig erhöhten DHEA- bzw. DHEA-S Werten erwarten. HOLZER (198o) verglich beim selben Kollektiv die 17-KS mit den DHEA-Spiegeln, konnte aber ebenfalls keinen Zusammenhang feststellen. GIVENS (24) berichtet allerdings über starke 17-KS-Erhöhungen bei adrenalen Tumoren, die v.a. DHEA-S produzieren, sodass die 17-KS ein gewisser Indikator für den jeweiligen DHEA-S Spiegel zu sein scheinen.

Des öfteren wurden auch die Konzentrationen von Cortisol im Blut hirsuter Frauen bestimmt (2,2o,26,52). Man erhoffte sich dabei v.a. Hinweise auf eine eventuell bestehende adrenale Überfunktion als Ursache der hirsuten Symptomatik zu finden. Die Ergebnisse selektiver Katheterisierung der Ovarial- und NNR-Venen (44,45) weisen allerdings darauf hin, dass der Hyperandrogenismus meistens ovarieller Genese sein dürfte. Auch die Tatsache,dass die medikamentöse ovariell-hypophysäre Suppression i.a. effektiver zu sein scheint als die adrenal-hypophysäre Suppression, deutet in diese Richtung (24,27). Auch die Annahme, dass zusätzlich bestehende Zyklusanomalien v.a. auf die NNR als Quelle des Androgen- und v.a. des DHEA-Überschusses hinweisen, muss bezweifelt werden (2,3,19,66). In dieser Untersuchung hatten 12 von 54 Patientinnen vor Therapie erhöhte Cortisol-Werte, die durchschnittliche Kon-

zentration war mit 182+-113ng/ml nicht erhöht. Es scheint allerdings eine Tendenz zu höheren Cortisol-Werten bei stärkerer Ausprägung des Hirsutismus zu bestehen (vgl. Tabelle 18). Ein Vergleich der Cortisol-Werte mit den entsprechenden T- und DHT-Konzentrationen zeigt, dass auch die Bestimmung des Cortisols wie auch die Bestimmung der 17-Ketosteroide nicht geeignet zu sein scheint, Patientinnen mit erhöhten T- oder DHT-Werten zu identifizieren: So waren bei den Patientinnen mit erhöhten Cortisol-Werten T und DHT nicht überdurchschnittlich häufig erhöht. Während Therapie war Cortisol im Durchschnitt signifikant höher als vor Therapie (291+-149ng/ml). Auch KAISER et al.(1976) beschrieben einen leichten Cortisol Anstieg unter Therapie. Es lässt sich zur Zeit kaum beurteilen, ob Änderungen des Steroidstoffwechsels auf adrenaler Ebene, Änderungen der hypophysären Regulation oder andere noch unbekannte Mechanismen den Anstieg der Cortisolkonzentrationen unter Therapie bewirken.

Seit Einführung des Cyproteronacetats 1969 durch HAMMERSTEIN in die Therapie des Hirsutismus berichteten eine Anzahl von Autoren über erstaunliche Erfolge mit dieser Therapieform (7,2o,28,29,3o,32,48,59,71,74,79).

Auch unsere klinische Auswertung kam zu vergleichbaren Ergebnissen: So besserte sich die hirsute Symptomatik in 2/3 aller Fälle. Dabei scheint die Häufigkeit der Besserung unabhängig von der Ausprägung des Hirsutismus zu sein (vgl. Tabelle 22). Die Begleitsymptome wie Akne, Seborrhoe und Alopezie besserten sich bei mindestens 8o% der Fälle, wobei der Behandlungserfolg bei der androgenbedingten Alopezie sich allerdings erst nach längerer Therapiedauer einzustellen scheint. Insgesamt gesehen scheint diese neue Therapieform im Vergleich zu früheren Therapiearten (Korticosteroide; Östrogene und Gestagene) zu eindeutig besseren Behand-

lungsergebnissen zu führen (1o,16,28,49).

Während der Therapie scheint es dabei zu einem mehr oder weniger ausgeprägten Abfall der Androgene zu kommen: HÄFFELE et al. (1975) behandelten 3o hirsute Frauen nach dem gleichen Schema und fanden einen signifikanten Abfall der Androgene bei allerdings nur leicht erhöhten Werten vor Therapie. ZIELSKE et al. (1971) beobachteten ebenfalls bei der Mehrzahl ihrer Patientinnen einen deutlichen Abfall, andere Autoren (2o,37,72) berichten von einem leichten, aber nicht signifikanten Abfall von T und DHT; FRÖHLICH (1977) glaubte eine Tendenz zu fallenden Testosteron-Werten unter Therapie feststellen zu können.

Bei den von uns untersuchten Frauen fielen Testosteron und Dihydrotestosteron unter Therapie im Durchschnitt signifikant ab, die durchschnittlichen Konzentrationen von DHT und v.a. von T blieben aber noch deutlich über dem Normalwert. Dabei fiel Testosteron bei über 8o% der Frauen, DHT bei immerhin der Hälfte der Frauen signifikant ab, unter Therapie waren nur noch bei 1o% der Frauen die T- und DHT-Werte signifikant erhöht.

Cyproteronacetat zusammen mit Östrogenen scheint also bei mindestens der Hälfte der Frauen T und DHT deutlich zu senken und dies auch bei Frauen, die vor Therapie normale Androgenwerte aufwiesen. Eine Tendenz zu noch häufigeren Abfällen bei hohen Basalwerten, wie sie von anderen Untersuchern beschrieben wurde (9,79), konnten wir in dieser Untersuchung nicht feststellen. Auch scheint sich nach unseren Ergebnissen das Verhalten der Androgene unter Therapie bei Frauen mit schwerem Hirsutismus nicht von dem leichterer Hirsutismusformen zu unterscheiden (vgl. Tabelle 9 und 1o). Dass Cyproteronacetat aber nicht nur die potenten Androgene T und

DHT deutlich senkt, beschrieben schon viele Untersucher (1, 3, 27, 52): Auch die Konzentrationen der schwachen Androgene A, DHEA und DHEA-S scheinen unter Therapie deutlich niedriger zu werden. HOLZER (1980) untersuchte bei denselben Patientinnen, bei denen wir T und DHT bestimmten, A und DHEA und kam zu vergleichbaren Ergebnissen.

Betrachtet man den zeitlichen Verlauf der Androgenspiegel unter Therapie (vgl. Tabelle 7), so scheinen T und DHT schon während des ersten Therapieabschnittes (1.-3.Monat) auf ein Niveau abzufallen, das sich dann während der ganzen restlichen Therapiezeit nicht mehr zusätzlich zu senken scheint. Andere Autoren (9,29) beschrieben im Gegensatz dazu einen fortschreitenden Abfall der Androgene unter Therapie - allerdings scheint der Abfall in den ersten Monaten doch am stärksten zu sein.

Ein Vergleich der Androgenwerte unter Cyproteronacetat- und gleichzeitiger Äthinylöstradiol-Einnahme mit Werten, die unter alleiniger Cyproteronacetat-Einnahme bestimmt wurden, ergab keinen Unterschied, so dass in unseren Untersuchungen nichts für einen zusätzlich androgensupprimierenden Einfluss des CA im Vergleich zum Äthinylöstradiol spricht. Allerdings könnte das CA durch seine lange Speicherzeit im menschlichen Fettgewebe (ca. 14 Tage) auch noch im einnahmefreien Intervall seine supprimierende Wirkung entfalten. Östrogene allein scheinen die Androgene auch schon deutlich zu senken (16). ADEL (1974) berichtet über einen leichten, zusätzlich supprimierenden Einfluss des Cyproteronacetats.

Entscheidend für die Supprimierung der Androgene scheint der antigonadotrope Effekt des CA und auch des Östrogenanteils zu sein. Auch bei unseren behandelten Frauen fielen die Gonadotropine unter Therapie signifikant ab, wie in anderen Untersuchungen ebenfalls be-

schrieben wurde (23,27,3o,72). Dabei soll LH noch stärker abfallen als FSH, der LH-Peak in Zyklusmitte wird dabei vollständig supprimiert (23). GIVENS (1975, 1976,1978) beschrieb v.a. erhöhte LH-Werte vor Therapie, die dann unter Therapie signifikant niedriger wurden und schloss daraus auf einen v.a. LH-induzierten Hyperandrogenismus. Bei den von uns untersuchten Frauen hatten nur ca. 1o% der Patientinnen auffallend hohe LH-Spiegel vor Therapie, wobei die T- und DHT-Konzentrationen bei diesen Frauen aber nicht überdurchschnittlich erhöht waren.

Inwieweit die von KARSCHNIA et al. (1973) beschriebene Hemmung der Testosteron-Biosynthese durch Cyproteronacetat einen Anteil an der Senkung der T- bzw. DHT-Spiegel hat, lässt sich bis jetzt nur schwer abschätzen.

Zusätzlich wurde eine induzierende Wirkung des CA zusammen mit Östrogenen auf die SHBG-Synthese beschrieben (5,6), sodass sich unter Therapie der prozentuale Anteil des ungebundenen, biologisch aktiven Testosterons wieder normalisierte. Ähnliche Wirkungen soll auch der Östrogenanteil allein auf die SHBG-Synthese haben (6, 27,73).

Auf jeden Fall scheint der Androgenabfall unter Therapie nicht ausschlaggebend für die therapeutische Wirksamkeit des CA zu sein, worauf auch vergleichende Untersuchungen über Androgenabfall und therapeutische Wirksamkeit bei Anwendung von Östrogenen, Kortikosteroiden, Gestagenen oder CA hinweisen (39): Trotz vergleichbarer Verminderung der Androgene war die Therapie mit CA allen anderen Therapiearten bezüglich ihrer Wirksamkeit überlegen (1o,39).

Von grosser Bedeutung scheint vielmehr die zusätzliche antiandrogene Wirkung des Cyproteronacetats zu sein (14,29). Diese antiandrogene Wirkung ist durch die

kompetitive Verdrängung der körpereigenen Androgene an den Rezeptoren der Zielorgane zu erklären (3o). In-vitro Untersuchungen an menschlichem Prostatagewebe zeigten, dass CA sowohl die Bindung von DHT an den Plasma- als auch an den Nuklearrezeptor zu hemmen scheint (55,76).

Ein Vergleich der Häufigkeit und des Ausmasses der Androgenabfälle unter Therapie mit den klinischen Verlaufsformen lässt ebenfalls vermuten, dass die androgensupprimierende Wirkung des Cyproteronacetats nicht von alleiniger Bedeutung für die klinische Wirksamkeit des CA zu sein scheint:
Sowohl die Androgenspiegel vor Therapie als auch die Konzentrationen unter Therapie waren bei Patientinnen ohne klinische Besserung vergleichbar mit denen von Frauen, deren Symptome sich unter Therapie leicht oder sogar gut besserten (vgl. Tabelle 13 und 14). Bei 17% der Patientinnen, bei denen eine Besserung beobachtet werden konnte, fiel Testosteron unter Therapie nicht ab, DHT blieb sogar in 54% der Fälle mit Besserung konstant. Umgekehrt fiel Testosteron bei 8o%, DHT bei 67% der Patientinnen ohne klinische Besserung trotzdem unter Therapie signifikant ab. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass keine positive Korrelation zwischen Androgensupprimierung und Therapieerfolg einerseits bzw. Therapieresistenz und konstanten Androgenspiegeln andererseits zu bestehen scheint. HÄFFELE et al. (1975) und andere Autoren (9,3o) konnten bei ihren Untersuchungen wie wir ebenfalls keinen unmittelbaren Zusammenhang zwischen entsprechendem Androgenabfall und klinischer Besserung feststellen.

Bei Berücksichtigung all dieser Ergebnisse lässt sich also sagen, dass die Bestimmung der totalen Plasmakonzentrationen von T und DHT auch unter Therapie genauso wie vor Therapie (siehe oben) keine wesentlichen - für den Therapiefortgang bedeutenden - Erkenntnisse bringt: Weder die absoluten Hormonspiegel unter Therapie noch der Vergleich mit den entsprechenden Werten vor Therapie scheinen mit dem Behandlungsergebnis in erkennbarem Zusammenhang zu stehen. Eine Suppremierung der Androgene unter Therapie ist sowieso in der Mehrzahl der Fälle zu erwarten, scheint aber für die Wirksamkeit des Cyproteronacetats, wie beschrieben, nicht die allein entscheidende Rolle zu spielen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 54 Frauen mit idiopathischem Hirsutismus, die mit Cyproteronacetat und Äthinylöstradiol behandelt worden waren (umgekehrte 2-Phasentherapie nach HAMMERSTEIN bzw. modifiziert nach SCHINDLER),wurden Testosteron, Dihydrotestosteron, Cortisol und die 17-Ketosteroide bestimmt. 63% der Patientinnen hatten vor Therapie erhöhte T-Werte, 48% hatten erhöhte DHT-Werte. Die vor Therapie im Durchschnitt signifikant erhöhten T- und DHT-Konzentrationen (T: o,49+-o,33ng/ml; DHT: o,51+-o,19ng/ml) fielen unter Therapie signifikant ab (T: o,26+-o,1ong/ml; DHT: o,34+-o,19ng/ml), blieben jedoch deutlich über dem Normalbereich gesunder Frauen (T: o,2o+-o,o9ng/ml; DHT: o,31+-o,o9ng/ml). Es scheint weder ein Zusammenhang zwischen Ausprägung des Hirsutismus und T- und DHT-Konzentrationen noch eine Beziehung zwischen klinischer Besserung und Häufigkeit bzw. Ausmass des Androgenabfalls zu bestehen: Die durchschnittlichen T- bzw. DHT-Konzentrationen betrugen bei Frauen mit leichtem Hirsutismus o,46+-o,1ong/ml bzw. o,57+-o,25ng/ml, bei Frauen mit mittelschwerem Hirsutismus o,42+-o,18ng/ml bzw. o,5o+-o,19ng/ml, bei schweren Hirsutismusformen o,49+-o,2ong/ml bzw. o,51+-o,15ng/ml. Bei den Patientinnen ohne klinische Besserung fiel T bzw. DHT im Durchschnitt um 44% bzw. 45% ab, bei den Patientinnen mit leichter Besserung wurde ein durchschnittlicher Androgenabfall von 39% bzw. 37% beobachtet, bei den Patientinnen mit guter Besserung fiel T um 37%, DHT um 27% ab.

22% der Frauen hatten vor Therapie erhöhte Cortisolwerte. Unter Therapie stieg die durchschnittliche Cortisolkonzentration signifikant an (von 182+-113ng/ml auf 291+-149ng/ml). 34% der Frauen hatten vor Therapie

17-Ketosteroid-Werte im 24-Stunden-Urin, die oberhalb des Normbereiches lagen. Es scheint jedoch weder die Bestimmung des Cortisols im Plasma noch die Bestimmung der 17-Ketosteroide im Urin geeignet zu sein, Patientinnen mit einer Erhöhung der Plasmakonzentrationen von Testosteron bzw. Dihydrotestosteron zu identifizieren.

LITERATURVERZEICHNIS

(1) ABRAHAM, G.E.: Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle.
J.Clin.Endocrinol.Metab.39/2:34o-346(1974)

(2) ABRAHAM, G.E., CHAKMAKJIAN,Z.H., BUSTER,J.E., and MARSHALL,J.R.: Ovarian and adrenal contributions to peripheral androgens in hirsute women.
Obstet.Gynec. 46/2: 169-173 (1975)

(3) ABRAHAM,G.E., G.B. MAROULIS, J.E.BUSTER, J.R. CHANG, and J.R. MARSHALL: Effekt of dexamethasone on serum cortisol and androgen levels in hirsute patients.
Obstet.Gynec. 47/4: 395-4o2 (1976)

(4) BARDIN,C.W., and M.B.LIPPSTETT: Testosterone and androstendione blood production rates in normal women and women with idiopathic hirsutism or polycystic ovaries.
J.Clin.Invest. 46/ : 891 (1967)

(5) BARNES, E.W., W.J.IRVINE, W.M. HUNTER, and A.A.A. ISMAIL : Cyproterone acetate : a study involving two volunteers with idiopathic hirsutism.
Clin. Endocrinol. 4 : 65-73 (1975)

(6) BARTSCH W., H.-J. HORST, H.BECKER, and G.NEHSE: Sex hormone binding globuline capacity, testosterone, 5-dihydrotestosterone, oestradiol and prolactin in plasma of patients with prostatic carcinoma under various types of hormonal treatment.
Acta Endocr. 85: 65o-664 (1977)

(7) BRAENDLE W., H.BOESS, M.BRECKWOLDT, CH.LEVEN, and G.BETTENDORF: Wirkung und Nebenwirkung der

G.BETTENDORF : Wirkung und Nebenwirkung der Cyproteronacetatbehandlung.
Arch. Gynäk.216: 335-345 (1974)

(8) CASEY J.H., H.G. BURGER, and J.R.
Treatment of hirsutism by adrenal and ovarian suppression.
J.Clin.Endocrinol.Metab.26 : 1370-1374

(9) CITTADINI E., and P.BARRECA : use of antiandrogens in gynecology.
in: Androgens and antiandrogens, edited by L.Martini and M.Motta Raven press, New York 77

(10) CUPCEANCU E., und HAMMERSTEIN,J.: Behandlung des Hirsutismus mit Kortikoiden, Ovulationshemmern und Antiandrogenen.

(11) DEHMISCH K.,W.MAGNET, M.NEUBAUER und K.SCHOFFLING: Untersuchungen über das Verhalten der Androgene im Plasma hirsuter Frauen.
Dtsch.Med.Wschr. 100 : 1117-1123 (1975)

(12) DeVAINE G.W., N.M.CZEKALA, H.L.JUDD, and S.S.C. YEN: Circulating gonadotropins, estrogens and androgens in polycystic ovarian disease
Am.J.Obstet.Gynecol.121/4 :497-500 (1975)

(13) DUPON C., R.ROSENFIELD,and R.E.CLEARY:
Sequential changes in total and free testosterone and androstendione in plasma during spontaneous and clomid-induced ovulatory cycles.
Am.J.Obstet.Gynecol. 115/4:478-482(1973)

(14) EBLING F.J.: Antiandrogens in dermatology in: Androgens and antiandrogens, edited by L. Martini and M.Motta Raven press,New York (1977)

(15) ELSÄSSER K., R.HÄFFELE, und A.KÖNIG: Verhalten von Plasmasteroiden bei hirsuten Frauen unter Anwendung von Dexamethason-HCG-Tests. Archiv.Gynäk.219: 58o (1975)

(16) ETTINGER B., E.GOLDFIELD, K.BURRILL,K.WERDER, and P.FORSAHAM: Plasma testosterone stimulation-suppression dynamics in hirsute women. Amer.J.Med. 54 : 195-2oo (1973)

(17) FANG F., LIAO,S.: Molec. Pharmacol. 5 : 428 (1968)

(18) FIXSON, M.: Geburtshilfe u.Frauenheilk. 23:371 (1963)

(19) FLAMIGNI C., VENTUROLI,S., S.LODI,G.BOLLELLI,M. NARDI, and A. DILAO: Role of androgens in clinical disorders. in:Androgens and antiandrogens,edited by l. Martini and M.Motta,Raven Press,New York (1977)

(2o) FLOERSHEIM P., KELLER,P.J.: Hormonale Behandlung des Hirsutismus Schweiz.med.Wschr.1o6,Nr.17:573-574(1976)

(21) FORBES,A.P.: Endocrine function in hirsute women. New.Engl.J.Med.294: 665-667 (1976)

(22) FRÖLICH,M.,N.LACHINSKI,A.J.MOOLENAAR: The influence of combined cyproterone acetate-ethinyl oestradiol therapy on serum levels of dehydro-epiandrosterone, androstendione,and testo-sterone in hirsute women. Acta Endocr. 84:333-342 (1977)

(23) GUISTI,M.,PARAZZI,F.,REITANO,A.,BOLOGNESI,F., GIORDANO,G.: Longitudinal study of the beha-viour of certain hormonal parameters in women undergoing treatment with cyproterone

acetate.
Acta Europ.Fert. 8: 211-228 (1977)

(24) GIVENS,J.R.: Hirsutism and hyperandrogenism
Adv. Int. Med. 21 : 221-247 (1976)

(25) GIVENS,J.R. : Normal and abnormal androgen-metabolism.
Clin.Obstet. Gynec.21/1:115-123 (1978)

(26) GIVENS,J.R., R.N.ANDERSEN,J.B.RAGLAND, W.L. WISER, and E.S.UMSTOT : Adrenal function in hirsutism I. Diurnal change and response of plasma androstendione, testosterone, 17-hydroxyprogesterone, cortisol, LH and FSH to dexamethasone and 1/2 unit of ACTH.
J.Clin.Endocrinol.Metab.4o/6:988-1ooo(1975)

(27) GIVENS,J.R., R.N.ANDERSEN, W.L.WISER, E.S. UMSTOT,and S.A.FISH: The effectiveness of two oral contraceptives in suppressing plasma androstenedione, testosterone, LH, and FSH, and in stimulating plasma testo-sterone-binding-capacity in hirsute women.
Am.J.Obstet.Gynec. 124/4: 333-339(1976)

(28) GRUND,E., SCHMIDT-ELMENDORF,H.: Behandlung von Virilisierungserscheinungen.
Med.Welt 26/Heft 48: 218o-2187 (1975)

(29) HÄFFELE,R.,ELSÄSSER,F.,und KÖNIG,A.: Cyproteron-acetat: Wirkungen auf das hormonelle System bei Frauen mit Hirsutismus.
Archiv Gynäk. 219: 579-58o (1975)

(3o) HAMMERSTEIN,J.,:Moderatorenbericht im Arbeits-kreis Antiandrogene.
Archiv.Gynäk.214: 243-251 (1973)

(31) HAMMERSTEIN,J.: Male Contraception
in: Androgens and Antiandrogens, edited by L.Motta and L.Martini, Raven Press 1977

(32) HAMMERSTEIN,J., und B.CUPCEANCU: Behandlung des Hirsutismus mit Cyproteronacetat. Dtsch.Med.Wschr.94: 829-834 (1969)

(33) HOLZER,R.: Radioimmunologische Bestimmung von Androstendion und Dehydroepiandrosteron im Plasma hirsuter Frauen vor und während Therapie mit Cyproteronacetat und Äthinylöstradiol. Med.Dissertation, Tübingen (198o)

(34) HORTON,R.,and J.F.TAIT: Androstendione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies of the possible site of its conversion to testosterone. J.Clin.Invest.: 45/3: 3o1-312 (1966)

(35) HOSSEINIAN,A.H., M.H.KIM,and R.L.ROSENFIELD: Obesity and oligomenorrhea are associated with hyperandrogenism independent of hirsutism. J.Clin.Endocrinol.Metab.42/4 : 765-769(1976)

(36) HUTSCHENREITER,G.,K.SINTERHAUF,andJ.E.ALTWEIN: Kinetics of 3H-Testosterone and 3H-DHT metabolism in patients with benigne prostatic hypertrophy-effect of cyproterone acetate. Eur.Urol.3: 1oo-1o4 (1977)

(37) IRVINE,W.J.,E.W.BARNES,W.M.HUNTER and A.A.A. ISMAIL: Effect of cyproterone acetate on steroid levels and hirsutism in two female patients in a long term study. J.Endocrin.61/1 (1974)

(38) ISMAIL,A.A.A.,D.W.DAVIDSON,K.E.KIRKHAM,and J.A. LORAINE: Studies on sex hormone excretion in normal and hirsute women. Acta Endocr. 61: 283-292 (1969)

(39) ISMAIL,A.A.A.,D.W.DAVIDSON,A.R.SOUKA,E.W.BARNES, W.J.IRVINE,H.KILIMNIK,and Y.VANDERBEEKEN: The evaluation of the role of androgens in hirsutism and the use of a new antiandrogen. J.Clin.Endocrinol.Metab.39,1:81-95 (1974)

(4o) KAISER,E.,E.-G.LOCH,G.WINCKELMANN,F.SCHRÖPL, M.DIETZ und P.HARTMANN: Behandlung mit Antiandrogenen bei der Frau. Med.Welt 27/heft 39 1836-1841(1976)

(41) KARSCHNIA,R.,K.ENGEL, und D.SIDNA: Die Beeinflussung der Testosteronbiosynthese im Rattenhoden durch Cyproteronacetat. Arch.Gynäk.214: 248-248 (1973)

(42) KESSLER,R: Radioimmunologische Bestimmung von T DHT bei Frauen mit Anorexia nervosa und anorektischer Reaktion. Med.Dissertation,Tübingen (198o)

(43) KIRSCHNER,M.A., and C.W.BARDIN: Androgenproduction and metabolism in normal and virilized women. Metabolism 21: 667 (1972)

(44) KIRSCHNER,M.A., and J.B.JACOBS: Combined ovarian and adrenal vein catheterization to determine the site(s) of androgen overproduction in hirsute women. J.Clin.Endocrinol. Metab.33: 199-2o9 (1971)

(45) KIRSCHNER,M.A.,R.ZUCKER,and D.JESPERSEN: Idiopathic hirsutism _ an ovarian abnormality New Engl.J.Med.294 637-64o (1976)

(46) KIRSCHNER,M.A., S.SINMAMAHAPATRA, I.R.ZUCKER, L.LORIAUX, and E.NIESCHLAG: The production, origin and role of dehydroepiandrosterone and Δ^5-androstendiol as androgen prehormones in hirsute women.

J.Clin.Endocrinol.Metab.37/2 (1973)

(47) KLEY,H.K.,H.L.KRÜSKEMPER: Androgene - Biochemie. Wirkungsweise, therapeutische Anwendung. Med.Klin. 68/1o 295-3o5(1973)

(48) LABHART,A.: Hirsutismus Schweiz.med.Wschr.1o6: 1197-12o1 (1976)

(49) LACHNIT-FIXSON,U., J.KAUFMAN: Zur Beeinflussung von Androgenisierungserscheinungen. Med.Klin.72: 1922-1926 (1977)

(5o) LLOYD,C.W.,J.LOBOTSKI,E.J.SEGRE,T.KOBAYASHI, M.L.TAYMOR,and R.E.BLATT: Plasma testosterone and urinary 17-ketosteroids in women with hirsutism and polycystic ovaries. J.Clin.End.M.26: 314-324 (1966)

(51) LOCH,E.G.: Die Diagnostik des Androgenüberschusses der Frau. Med.Welt.27/Heft 39: 1841-1842 (1976)

(52) MAROULIS,G.B.,F.S.MANLIMOS,G.E.ABRAHAM: Comparision between 17-ketosteroids and serum androgens in hirsute patients. Obstet.Gynecol.49/4: 454-458 (1977)

(53) MAROULIS,G.B.,F.S.MANLIMOS,G.E.ABRAHAM: Comparision between 17-ketosteroids and serum androgens in hirsute patients. Obstet.Gynec. 49/4: 454-458 (1977)

(54) MAHESH,V.B.: Exzessive androgen secretion and use of antiandrogens in endocrine therapy. in: Androgens and Antiandrogens, edited by L.Martini and M.Motta Raven Press New York (1977)

(55) MAINWARING,W.I.P.: Modes of action of-antiandrogens: a survey

in: Androgens and Antiandrogens
edited by 1.Martini and M.Motta
Raven Press, New York (1977)

(56) MAUVAIS-JARVAIS,P.: Androgen metabolism in human skin: mechanism of control
in: Androgens and Antiandrogens
edited by L.Martini and M.Motta
Raven Press, New York (1977)

(57) MESTMAN,J.H.,G.V.ANDERSON,D.H.NELSON: Adrenal-pituitary responsiveness during therapy with an oral contraceptive.
Obstet.Gynec.31: 378 (1968)

(58) NEALE,CH.,D.KREBS und G.BETTENDORF: Behandlung der Akne, des Hirsutismus und der Alopezie mit Cyproteronacetat und Äthinyl-Östradiol.
Acta. Endocrin.(Suppl) 152 : 13 (1971)

(59) NEUMANN,F.,und H.STEINBECK: Antiandrogene. Tierexperimentelle Grundlagen und klinische Anwendungsmöglichkeiten.
Interist 12: 198-2o5 (1971)

(6o) NEUMANN,F., K.J.GRÄF,S.H.HASAN,B.SCHENK,and H. STEINBECK: Central actions of antiandrogens.
in: Androgens and Antiandrogens
edited by L.Martini and M.Motta
Raven Press, New York (1977)

(61) OKAMOTO,M.,C.SETAISHI,K.NAKAGAWA,Y.HORIUCHI, K.MORIYA,and S.ITOH:Diurnal variations in the levels of plasma and urinary androgens.
/Vol 32: 846-851 (1971)

(62) OLIVEIRA,DE R.F.C.,L.P.NOVAES,M.B.LIMA,J.RODRIGUES,S.FRANCO,A.I.KHENAIFES, and C.P. FRANCALANCI: A new treatment for hirsutism.
An.Int.Med.83: 817-819 (1973)

(63) PAULSON,J.D.,D.W.KELLER,W.G.WIEST,J.C.WARREN: Free testosterone concentration in serum: elevation is the hallmark of hirsutism. Am.J.Obstet.Gynecol. 128: 851-857 (1977)

(64) RODBARD,D.,J.E.LEWALD: Computer analysis of radioligand assay and radioimmunoassay data. In: E.Diczfalusy(Hg), Steroidassay by protein binding,79, (197o), Karolinska Symposia on research methods in reproductive endocrinology, Geneva 197o. Bogtrykkeriet Form, Compen.

(65) ROSENFIELD,R.L.,J.C.HELKE: Small diurnal and episodic fluctuations of the plasma free testosterone level in normal women. Am.J.Obstet.Gynecol.12o: 461-465 (1975)

(66) ROSENFIELD,R.L.,EHRLICH,E.N., and R.E.CLEARY: Adrenal and ovarian contributions to the elevated free plasma androgen levels in hirsute women. J.Clin.Endocrinol.Metab.34/1 92-98

(67) ROY,A.K.,P.ROBEL,E.BAULIEU: 3a-hydroxy and 3b-C-19-steroids in prostate organ culture. Endocrinology 92: 1216 (1972)

(68) SAMAAN,N.A., R.B.GATES,R.C.HICKEY, and F.H.RUTLEDGE: Endocrine studies during stimulation-suppression in hirsutism. Obstet.Gynec. 46/1: 1o4-1o8 (1975)

(69) SCHINDLER,A.E.: Androgene der Frau. Sexualmedizin 5: 783-793 (1976)

(7o) SCHINDLER,A.E.: Antiandrogene in der Gynäkologie Sexualmedizin 6: 361-366 (1977)

(71) SCHINDLER,A.E.,K.MANGOLD,E.FRIEDRICH,E.KELLER, and R.GÖSER: Therapy of androgenetic symptomatology with cyproterone acetate and ethinyl estradiol.
Archiv Gynäk. 225: 1o3-1o7 (1978)

(72) SILVESTRINI,F.: Use of antiandrogens in female endocrinology.
in: Androgens and Antiandrogens
edited by L.Martini and M.Motta
Raven Press, New York (1977)

(73) SZAMATOWICZ,M.,M.KULIKOWSKI: Unbound 17-b-hydroxy steroids and TeBG as an index of androgenicity in normal and hirsute girls with menstrual disturbances.
Endocrinologie 64/1: 58-62 (1974)

(74) TAUBERT,H.D.: Übersicht - Hirsutismus. Hochdosierte Antiandrogen-Therapie bringt nur eine "gewisse Besserung".
Medical Tribune Nr.46 : 18 (1977)

(75) THOMAS,J.P.,OAKE,R.J.: Androgenmetabolism in the skin of hirsute women.
J.Clin.Endocrinol.Metab.38: 19 (1974)

(76) TVETER,K.J., C.UNHJEM,A.ATTRAMADEL,A.A.KRAAG, V.HANSSEN: Workshop on steroid hormone receptors.
Berlin 197o (im Druck) (1971)

(77) WIELAND,R.G.,E.M.ZORN,M.C.HALLBERG: Differental studies on the mechanism of serum androgens and androgen-binding-abnormalities in hirsutism.
Am.J.Obstet.Gynec.117: 983-986 (1973)

(78) WILSON,J.D.,and J.D.WALKER:
J.Clin.Invest.48: 371 (1969)

(79) ZIELSKE,F.,I.LEO-ROSSBERG,R.DREYKLUFT,A.RÖMMLER, and J.HAMMERSTEIN: Treatment of hirsutism and other signs of virilism with a reversed sequential administration of cyproterone acetate and ethinyl estradiol: clinical and endocrinological aspects.
Acta endocrin.(Suppl) 153 : 172 (1971)

Für die freundliche Überlassung des Themas möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr. A. E. Schindler danken; besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Göser, der mir stets mit seinem Rat zur Seite stand. Die Medizinisch Technischen Assistentinnen des RIA-Labors waren mir eine grosse Hilfe bei der praktischen Durchführung dieser Arbeit.

LEBENSLAUF

Ich, Klaus Josef Engelhard, wurde am 5.Juni 1953 als Sohn des Studiendirektors Franz Engelhard und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Gall, in Crailsheim geboren. Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Grundschule Stimpfach/Kreis Crailsheim, 1964 trat ich in das Graf-Zeppelin-Gymnasium in Friedrichshafen ein, wo ich 1972 meine Reifeprüfung ablegte. Juni 1972 bis März 1974 leistete ich meinen Wehrdienst ab. Zum Sommersemester 1974 immatrikulierte ich mich an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen für das Fach Humanmedizin, wo ich April 1976 die Ärztliche Vorprüfung, April 1977 den ersten Teil, August 1979 den zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ablegte. Das Praktische Jahr absolvierte ich am Städtischen Krankenhaus in Friedrichshafen, am 21.Oktober 1980 schloss ich das Medizinstudium mit dem dritten Teil der Ärztlichen Prüfung ab.